



**MARVIN MATEO PEC HERNANDEZ**

**EFEITO DE PLANTAS NÃO HOSPEDEIRAS ASSOCIADAS  
COM A TANGERINEIRA *Citrus reticulata* NA SELEÇÃO  
HOSPEDEIRA E SOBREVIVÊNCIA DE *Diaphorina citri*  
KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

**LAVRAS – MG  
2020**

**MARVIN MATEO PEC HERNANDEZ**

**EFEITO DE PLANTAS NÃO HOSPEDEIRAS ASSOCIADAS COM A  
TANGERINEIRA *Citrus reticulata* NA SELEÇÃO HOSPEDEIRA E  
SOBREVIVÊNCIA DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, área de concentração em Entomologia, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor  
Orientadora

Dra. Ester Alice Ferreira  
Coorientadora

**LAVRAS – MG  
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Pec Hernandez, Marvin Mateo.

Efeito de plantas não hospedeiras associadas com a tangerineira *Citrus reticulata* Blanco na seleção hospedeira e sobrevivência de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) /Marvin Pec.- 2020.

58p. : il.

Orientador (a) Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor

Coorientador(a) Ester Alice Ferreira

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras,2020.

Bibliografia.

1. Psilídeo-asiático-dos-citros, 2. 'Ponkan'3. abacate, 4. sobrevivência, 5. Citros. I. Peñaflor, Maria Fernanda Gomes Villalba. II. Ferreira, Ester Alice. III. Título.

**MARVIN MATEO PEC HERNANDEZ**

**EFEITO DE PLANTAS NÃO HOSPEDEIRAS ASSOCIADAS COM A  
TANGERINEIRA *Citrus reticulata* NA SELEÇÃO HOSPEDEIRA E  
SOBREVIVÊNCIA DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

**EFFECT OF NON-HOST PLANTS ASSOCIATED WITH TANGERINE  
*Citrus reticulata* ON THE HOSTING SELECTION AND SURVIVAL OF  
*Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, área de concentração  
em Entomologia, para a obtenção  
do título de Mestre.

APROVADA em 17 de fevereiro de 2020.

Dr (a). Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor UFLA

Dr. Ronald Zanetti UFLA

Dr Alexandre José Diniz ESALQ

Profa. Dra. Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor  
Orientadora

Dra. Ester Alice Ferreira  
Coorientadora

**LAVRAS-MG  
2020**

## DEDICO

**À Deus,**

Por me dar as seguintes palavras: Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo, à sombra do Onipotente descansará. Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu refúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei. Porque Ele te livrará do laço do passarinho, e da peste perniciosa. Ele te cobrirá com as suas penas, e debaixo das suas asas te confiarás; a sua verdade será o teu escudo e broquel. Não terás medo do terror de noite nem da seta que voa de dia. Nem da peste que anda na escuridão, nem da mortandade que assola ao meio-dia. Mil cairão ao teu lado, e dez mil à tua direita, mas não chegará a ti. Somente com os teus olhos contemplarás, e verás a recompensa dos ímpios. Porque tu, ó Senhor, és o meu refúgio. No Altíssimo fizeste a tua habitação. Nenhum mal te sucederá, nem praga alguma chegará à tua tenda. Porque aos seus anjos dará ordem a teu respeito, para te guardarem em todos os teus caminhos. Eles te sustentarão nas suas mãos, para que não tropeces com o teu pé em pedra. Pisarás o leão e a cobra; calcarás aos pés o filho do leão e a serpente. Porquanto tão encarecidamente me amou, também eu o livrarei; pô-lo-ei em retiro alto, porque conheceu o meu nome. Ele me invocará, e eu lhe responderei; estarei com ele na angústia; dela o retirarei, e o glorificarei. Fartá-lo-ei com longura de dias, e lhe mostrarei a minha salvação.

Salmos 91:1-16

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Entomologia da Universidade Federal de Lavras por abrir novas perspectivas em minha mente sobre o manejo de pragas, através do intercâmbio e fortalecimento do conhecimento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG Sul de Minas/Eco Centro por todo suporte durante a realização deste trabalho.

À minha mãe por ser a pessoa com maior influência na minha vida. Obrigado por trazer-me ao mundo, dar-me cátedras sobre a vida, acertados conselhos e a luz de suas orações que sempre me acompanham. Te amo mãe.

Ao meu pai por dar-me os princípios e valores que formam uma pessoa de bem. Por me apoiar, me aconselhar e me instruir no curso de minha vida e nos meus estudos me guiando no caminho de Deus. Te amo pai.

À minha orientadora Dra. Maria Fernanda Peñaflor, pelos ensinamentos, atenção, paciência e conselhos bem-sucedidos.

À Dra. Ester, por ter me transmitido seu conhecimento sobre a citricultura e todo o apoio na realização do trabalho.

Aos queridos irmãos Juan Francisco, Elvia Tomasa, Marleny Nicolasa, Genesis Sarai e Josue David muito obrigado pelo apoio

Aos amigos do LEQIIP, Larinha Sales, Ramom, Fernanda, Tati, Livia, e Paty pelo carinho e amizade, por todo o auxílio e trocas de conhecimento, e também pelos ensinamentos do português. A melhor equipe!!

Aos amigos do mestrado 2019/1, Nathan, Emanuel, Rosamara, Larah, Amanda e Mariana, vocês com certeza fizeram a caminhada ser mais leve e divertida.

Aos amigos e família que fiz em Lavras, Sostenes, Janet, Viviana, Dayana, Andrea.

Este foi um grande desafio, e só foi possível chegar até aqui pois recebi a ajuda de todos que, direta ou indiretamente, contribuíram com a minha formação.

**A todos vocês, muito obrigado!**

## RESUMO

O psilídeo-asiático-dos-citros *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) é uma praga importante na citricultura em todo mundo, pois transmite as bactérias causadoras do Huanglongbing (HLB). Táticas baseadas na exploração de semioquímicos podem auxiliar no manejo integrado do vetor, evitando a sua colonização e estabelecimento nos pomares. Dessa maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar se a localização da tangerineira ‘Ponkan’ *Citrus reticulata* pelo psilídeo é alterada quando associada aos voláteis das plantas não hospedeiras *Coffea arabica*, *Persea americana* e *Passiflora edulis*, e se essas espécies podem abrigar temporariamente os psilídeos. Foi adaptado um ensaio em túnel de vento, no qual a associação com os voláteis do abacate reduziu a localização da tangerineira pelo psilídeo. Os voláteis da planta de maracujá, por sua vez, facilitaram a localização hospedeira pelo psilídeo e os da planta de café não influenciaram no comportamento do psilídeo. Em seguida, testamos se as plantas não hospedeiras poderiam servir de abrigo temporário, o que facilitaria a migração do psilídeo para os pomares de tangerina, isso foi avaliado com um ensaio sem chance de escolha. Os comportamento de mortalidade do abacate e maracujá foi igual, seguido pelo café proveio maiores condições favoráveis para o inseto, porém a tangerineira foi a melhor hospedeira, os tempos letais 50 (TL50) para os psilídeos foram entre 1.7 e 2.39 vezes maiores nas plantas não hospedeiras quando comparados aos psilídeos providos somente com água. Os resultados mostraram que plantas de abacate além de reduzir a quantidade de insetos quando é associado com a tangerineira, também permite o menor tempo de sobrevivência para o psilídeo. No entanto, estudos devem ser realizados para caracterizar a mistura de voláteis das plantas de abacate para permitir a seleção de compostos potencialmente repelentes, ou que interfiram negativamente na localização da planta hospedeira pelo inseto.

**Palavras chave:** Psilídeo-asiático-dos-citros, ‘Ponkan’, abacate, sobrevivência, citros.

## ABSTRACT

The Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) is an important pest in citrus growing worldwide, as it transmits the bacteria that cause huanglongbing (HLB). Tactics based on the exploitation of semiochemicals can assist in the integrated management of the vector, avoiding its colonization and establishment in orchards. Thus, the objective of this study was to evaluate whether the location of the 'Ponkan' *Citrus reticulata* mandarin by the psyllid is altered when associated with the volatiles of non-host plants *Coffea arabica*, *Persea americana* and *Passiflora edulis*, and whether these species can temporarily house the psyllids. A wind tunnel test was adapted, in which the association with the avocado volatiles reduced the location of the mandarin tree by the psyllid. The volatiles of the passion fruit plant, in turn, facilitated the host location by the psyllid and those of the coffee plant did not influence the psyllid's behavior. Then, we tested whether the non-host plants could serve as a temporary shelter, which would facilitate the migration of the psyllid to the tangerine orchards, this was evaluated with a trial with no choice. The mortality behavior of avocado and passion fruit was the same, followed by coffee, which provided greater favorable conditions for the insect, but the mandarin was the best host, lethal times 50 (TL50) for psyllids were between 1.7 and 2.39 times longer in non-plants hosts when compared to psyllids provided with water only. The results showed that avocado plants, in addition to reducing the amount of insects when associated with mandarin, also allows the shortest survival time for the psyllid. However, studies must be carried out to characterize the volatile mixture of avocado plants to allow the selection of compounds that are potentially repellent, or that interfere negatively in the location of the host plant by the insect.

**Key words:** Asian citrus psyllid, masking, non-host plants, survival, citrus.



## SUMÁRIO

<b>PRIMEIRA PARTE .....</b>	<b>1</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. Importância da citricultura.....	1
1.2. Importância do psilídeo-asiático-dos-citros.....	1
1.3. Métodos de controle .....	2
1.4. Uso de voláteis como ferramenta de controle para o Psilídeo.....	3
1.5. Papel das plantas hospedeiras secundárias na colonização de <i>D. citri</i> .....	5
1.6. Diversificação de culturas em Minas Gerais .....	5
<b>2. REFERENCIAS .....</b>	<b>6</b>
<b>SEGUNDA PARTE: ARTIGO.....</b>	<b>13</b>
<b>1. RESUMO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. ABSTRACT .....</b>	<b>15</b>
<b>3. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
4.1. Psilídeo-asiático-dos-citros.....	18
4.2. Plantas hospedeiras primárias e secundárias .....	18
4.3. Bioensaios de olfatometria .....	19
4.4. Bioensaios de túnel de vento .....	20
4.5. Bioensaio de sobrevivência de <i>D. citri</i> em plantas hospedeiras e não hospedeiras.	21
4.6. Análise estatística .....	22
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
5.1. Bioensaios de olfatometria .....	23
5.2. Bioensaios de túnel de vento .....	23
5.3. Bioensaio de sobrevivência de <i>D. citri</i> em plantas hospedeiras e não hospedeiras.	24
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>25</b>
<b>7. AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>28</b>
<b>8. REFERENCIAS .....</b>	<b>29</b>
<b>9. MATERIAL SUPLEMENTAR.....</b>	<b>33</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Criação do psilídeo *D. citri* em laboratório sob condições controladas..... 34
- Figura 2 Dimensões da câmara plástica utilizada na avaliação de resposta estímulos olfativos e visuais de planta hospedeira na combinação de plantas não hospedeiras..... 35
- Figura 3 Combinações para avaliar o efeito da associação da tangerineira e plantas não hospedeiras na resposta olfativa e visual de *D. citri*. (a) Tangerineira ‘Ponkan’+ Abacate; (b) Tangerineira ‘Ponkan’ + Café; (c) Tangerineira "Ponkan" + Maracujá; d) Tangerineira ‘Ponkan’ sozinha. .... 36
- Figura 4 Sistema de avaliação de estímulos olfativos e visuais de planta hospedeira na combinação de plantas não hospedeiras. Câmara plástica onde foi avaliado o número de insetos presentes na planta de tangerineira, câmara, copo e voile. Co=copo, Câ=câmara, Ta=Tangerineira, Vo=voile. .... 37
- Figura 5 Ensaio de sobrevivência de *D. citri*. foi conduzido em laboratório. Foram colocadas em arenas retangulares e cilíndricas de plástico contendo em seu interior plantas hospedeiras, não hospedeiras e apenas água. .... 38
- Figura 6 Teste de preferência olfativa de *D. citri* frente aos voláteis da Tangerineira ‘Ponkan’ e o Ar limpo, (GLMM, teste da razão de verossimilhança;  $\chi^2 = 2.4762$ , d. f. = 1,  $p = 0.1156$ ). .... 39
- Figura 7 Número de *D. citri* nos parâmetros (a) Planta de Tangerineira (b) Câmara (c) Copo y (d) Voile, avaliado na combinação Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’+ Abacate. .... 40
- Figura 8 Número de *D. citri* nos seguintes parâmetros (a) Planta de tangerineira (b) Câmara (c) Copo e (d) Voile, avaliado na combinação Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’+ Maracujá. .... 41
- Figura 9 Número de *D. citri* nos seguintes parâmetros (a) Planta de tangerineira (b) Câmara (c) Copo e (d) Voile, avaliado na combinação Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’+ Café..... 42
- Figura 10 Mortalidade acumulada de *D. citri* avaliada na tangerineira e plantas não hospedeiras (Abacate, maracujá e café) e sem alimento fornecido somente água. .... 43
- Figura 11 Número de *D. citri* na planta de maracujá e na tangerineira ‘Ponkan’ em um ensaio sem chance de escolha..... 45
- Figura 12 Efeitos das plantas não hospedeiras na escolha hospedeira e a sobrevivência do psilídeo. .... 46

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Mortalidade acumulada de *D. citri* (Media  $\pm$  SE) quantificada cada 24 horas. .... 44

## PRIMEIRA PARTE

### 1. INTRODUÇÃO

#### 1.1.Importância da citricultura

A citricultura é uma das atividades agrícolas de maior importância para o Brasil, sendo o país o maior produtor de citros (39%) e exportador de suco (68%) do mundo (USDA, 2018). O Estado de Minas Gerais é responsável por 5,4% da produção nacional, sendo o quarto maior produtor do país, ficando atrás de São Paulo, Bahia e Paraná (FERREIRA, 2014). O Triângulo Mineiro destaca-se por concentrar a maior parte da produção citrícola do Estado, cerca de 75% que se refere a 43 mil ha, de acordo com o levantamento realizado em 2014 (VALVERDE, 2014; NASCIMENTO, 2017).

A tangerineira é a segunda fruta cítrica mais produzida no Brasil. Ela é consumida *in natura* devido a qualidade inferior para a produção de suco quando comparada à laranja. A tangerineira *Citrus reticulata* ‘Ponkan’ é uma das mais populares (FERREIRA, 2014; NASCIMENTO, 2017), sendo o Estado de Minas Gerais o segundo maior produtor, com uma área de plantio de 7,6 mil ha e produção anual de 186 mil ton (SOUTO, 2017).

A importância dessa cultura tende a aumentar para atender à crescente demanda alimentar da população. Todavia, os produtores de citros estão sob constantes desafios devido a problemas fitossanitários que reduzem a produtividade, qualidade, valor de mercado e, por fim, aumento nos custos de produção. Dentre esses problemas, no Brasil, o psilídeo-asiático-dos-cítricos é um dos mais importantes da cultura devido aos danos diretos e indiretos, um fator limitante da produção.

#### 1.2.Importância do psilídeo-asiático-dos-citros

O psilídeo-asiático-dos-citros, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) é uma das pragas chaves dos pomares de citros. No Brasil, a presença do inseto foi relatado na década de 1940 (HALBERT; MANJUNATH, 2009; WENNINGER; HALL, 2009; MANN et al., 2012a). Inicialmente, *D. citri* foi considerada uma praga secundária nos citros já que não causava danos econômicos. Porém, entre 2004 e 2005, o inseto passou a ser uma praga chave devido à detecção do *Greening* (Huanglongbing/HLB), sendo *D. citri* o principal vetor em pomares citrícolas no Brasil, EUA, México e Belize (WENNINGER; HALL, 2009; GRAFTON-CARDWELL; STELINSKI; STANSLY, 2013).

O *Greening* é causado pelas bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* (AMMAR et al., 2016), as quais são transmitidas pelo psílideo (GRAFTON-CARDWELL; STELINSKI; STANSLY, 2013). Após a aquisição das bactérias pelo vetor, ela multiplica-se nas glândulas salivares e se torna sistêmica no corpo do inseto (STOCKTON et al., 2016; WU et al., 2018). A bactéria é letal para as plantas de citros e causa a queda de frutos, além de torná-los deformados e de gosto amargo. Plantas infectadas pelo HLB morrem depois de cinco a oito anos, reduzindo a produção de 30 até 100% nesse período (HALL; LAPOINTE; WENNINGER, 2007; WENNINGER; HALL, 2008; GOTTWALD, 2010; HALL et al., 2013; AMMAR et al., 2016).

Em 2018, a infestação do *Greening* em São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro teve uma incidência média de 18%, ou aproximadamente 35 milhões de árvores (FUNDECITRUS, 2018). No Estado de Minas Gerais, exceto Triângulo/Sudoeste Mineiro, existem relatos da presença da doença em quase todos os pomares de tangerina, porém, levantamentos mais detalhados ainda não foram realizados (FERREIRA, 2016).

### 1.3.Métodos de controle

O controle da doença é realizado por meio de pulverizações de inseticidas para reduzir a população do psílideo vetor, além da remoção das plantas infectadas e plantio apenas de mudas certificadas livres do *greening* (HALBERT; MANJUNATH, 2009; PAIVA; PARRA, 2012; HALL et al., 2013; ALVES; DINIZ; PARRA, 2014). Devido às limitações desses métodos no combate ao vetor e à doença, outras táticas de manejo têm sido estudadas para reduzir o impacto do *greening* na citricultura. Algumas táticas mostraram-se pouco promissoras, como programas de nutrição das plantas infectadas e inoculação de antibióticos (HALL et al., 2013).

Já o controle biológico do vetor por meio da liberação do parasitoide ninfal *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae) (AUBERT, 1987; NAVA et al., 2007; HALBERT; MANJUNATH, 2009; PARRA et al., 2016) e de microrganismos entomopatogênicos, como *Isaria fumosorosea* (Wize), *Hirsutella citriformis* Speare, *Lecanicillium lecanii* Zimm, *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv), *Metarhizium anisopliae* (HOY; SINGH; ROGERS, 2010; AUSIQUE, 2014; ORDUÑO-CRUZ et al., 2015; CONCESCHI, 2017), apresentaram resultados promissores para serem integrado ao manejo do psílideo. Nos pomares orgânicos e áreas urbanas de São Paulo, a liberação e estabelecimento de *T. radiata* proveem cerca de 68% na redução populacional do vetor, no entanto nos pomares comerciais só há sucesso quando não são aplicados inseticidas (DINIZ, 2013).

Além do controle biológico, táticas baseadas na exploração dos semioquímicos são promissoras para o manejo integrado do vetor. Recentemente, a estrutura química da principal molécula do feromônio sexual do psilídeo foi identificada com grandes perspectivas para serem exploradas em táticas de monitoramento e controle (ZANARDI et al., 2018). Muitos estudos demonstraram a importância dos aleloquímicos das plantas no comportamento de seleção hospedeira de *D. citri*, que também utiliza outros sinais, como cores e sons (WENNINGER; STELINSKI; HALL, 2009; PATT; SÉTAMOU, 2010; MANN et al., 2012a; STOCKTON et al., 2017; SEO; RIVERA; STELINSKI, 2018). Elas são capazes de localizar brotações novas nas plantas hospedeiras orientando-se pela emissão de voláteis, diferenciando-os das demais partes da planta, e pelas cores amarelo e verde brilhantes (WENNINGER; STELINSKI; HALL, 2009; ROBBINS et al., 2012; CIFUENTES-ARENAS et al., 2018; PATT et al., 2018).

#### **1.4. Uso de voláteis como ferramenta de controle para o Psilídeo.**

Devido à sensibilidade de *D. citri* aos voláteis, determinadas espécies de plantas não hospedeiras podem ser usadas em cultivos com o objetivo de repelir e deter a colonização do inseto. A goiabeira *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), por exemplo, emite uma mistura de voláteis que é considerada repelente para *D. citri* e, por isso, o seu plantio foi recomendado em pomares cítricos para diminuir a colonização do psilídeo (ROUSEFF et al., 2008; ZAKA et al., 2010; YAN; ZENG; ZHONG, 2015; BARMAN; CAMPBELL; ZENG, 2016). No entanto, o efeito das plantas de goiaba, cultivadas em proporção 1:1 com citros, na colonização e infecção pelo HLB parece ser temporário pois, após o primeiro ano, os níveis populacionais e de infecção são similares às áreas contendo apenas citros (ONAGBOLA et al., 2011; ICHINOSE et al., 2012; HALL et al., 2013). A propriedade repelente da goiaba para *D. citri* já foi atribuída a uma mistura de sulfatos de dimetila (DMDS), embora, mais recentemente, o composto da goiabeira mais estudado para a repelência do psilídeo seja o (*E*)- $\beta$ -cariofileno (OGUNWANDE et al., 2003; CHEN et al., 2007; SILVA et al., 2016; PATT et al., 2018).

Uma segunda tática baseada nos aleloquímicos de plantas seria a alteração da composição de voláteis constitutivos da planta por meio da manipulação de genes que controlam enzimas envolvidas na síntese de compostos voláteis (BEALE et al., 2006; MCCALLUM et al., 2011). A primeira etapa desse processo é a identificação do composto na mistura de voláteis responsável pela atividade biológica. No caso da planta de goiaba, que foi a espécie com potencial repelente para *D. citri* mais bem estudada, um trabalho recente desenvolveu uma planta de citros modificada geneticamente repelente para *D. citri* pela emissão

de uma alta concentração de (*E*)- $\beta$ -cariofileno semelhante à da mistura emitida pela goiabeira (ALQUÉZAR et al., 2017).

Estudos iniciais em arenas ou olfatometria indicam que espécies de plantas pertencentes às famílias Amaryllidaceae, Verbenaceae, Asteraceae, Myrtaceae, Apiaceae, Lamiaceae e Rosaceae apresentam potencial de repelência para *D. citri* (CEN et al., 2005; MANN et al., 2011, 2012b; CÁZARES ALONSO et al., 2014; OROZCO-SANTOS et al., 2016). Têm sido citados também a mangueira *Mangifera indica* L. e cajueiro *Anacardium occidentale* L. da família Anacardiaceae, como emissores de voláteis repelentes a *D. citri* (FANCELLI et al., 2018). Outros estudos não demonstram repelência, mas sim alterações no comportamento alimentar do psilídeo desencadeado pela exposição de voláteis de plantas não hospedeiras (YANG et al., 2013).

A disposição de plantas repelentes em uma área de cultivo pode reduzir as chances de uma adaptação do inseto à repelência da planta não hospedeira. Um sistema bem sucedido no uso de fontes repelentes é o *push-pull*, que integra um elemento repelente (por exemplo, a planta não hospedeira) no centro da área, consorciado com o cultivo, e um outro elemento atraente na bordadura (HOOKS; JOHNSON, 2003; COOK; KHAN; PICKETT, 2007; YAN; ZENG; ZHONG, 2015). A planta da bordadura do sistema *push-pull* para manejo do psilídeo pode ser uma planta mais atrativa que a tangerina. Há alguns estudos sobre a utilização de plantas iscas, já que *D. citri* é oligófago por alimentar-se de plantas hospedeiras da família Rutaceae, que poderiam ser utilizadas na periferia do *push-pull*. Por exemplo, alguns genótipos de *Citrus* são mais atrativos como *Citrus sinensis* (L.) Osbeck “Valência” (ROBBINS et al., 2012). Por sua vez, a planta de curry *Murraya koenigii* (L.) Spreng (Rutaceae) parece ser ainda mais vantajosa para ser usada como planta isca por apresentarem alta atratividade do psilídeo e ser imune ao *Greening* (BELOTI et al., 2018).

Uma terceira tática baseada nos aleloquímicos de plantas para o manejo do vetor do HLB em campo seria o mascaramento. O mascaramento do odor ocorre quando uma planta sensorial positiva (planta hospedeira) e uma planta sensorial indiferente ou negativa (repelente) são associadas, de modo que a mistura dos voláteis das plantas torna a planta hospedeira não detectável pelo inseto herbívoro (THIERY; VISSER, 1986, 1987; SCHRÖDER; HILKER, 2008; TOGNI et al., 2010). Essa estratégia tem muitas aplicações em policulturas (NOTTINGHAM et al., 1991; ISAACS et al., 1993; HELD; GONSISKA; POTTER, 2003; ZHANG; SCHLYTER, 2004). Nesse caso, não necessariamente a planta companheira associada ao pomar de citros emite compostos repelentes para o psilídeo. Mas, a combinação

de odores das duas espécies impede que os insetos detectem e reconheçam os voláteis da sua planta hospedeira (SCHRÖDER; HILKER, 2008). Até hoje, existem apenas dois estudos que mostraram mascaramento de odores dos citros para o psilídeo. Em um deles, os autores mostraram que o tempo de busca de *D. citri* pelo seu hospedeiro aumentou quando os odores dos citros foram combinados com os da planta *Rhododendron simsii* Planch. (Ericaceae), sugerindo o mascaramento (RUAN et al., 2015). O segundo estudo não foi realizado com plantas não hospedeiras, mas com uma molécula sintética do ácido acético, que mascarou os voláteis dos citros, reduzindo a colonização do inseto vetor (COUTINHO-ABREU et al., 2014).

### **1.5. Papel das plantas hospedeiras secundárias na colonização de *D. citri***

Uma das formas de manejo do vetor da doença HLB é entender as interações ecológicas e os padrões de distribuição do vetor. Por exemplo, quando as brotações em plantas de citros são escassas, os adultos de *D. citri* são obrigados a procurar um novo hospedeiro onde possam reproduzir. Neste cenário, as plantas hospedeiras secundárias que formam parte do agroecossistema dos pomares se tornam importantes, pois podem servir de refúgio e fonte alimentar temporária para os psilídeos, que não completam o ciclo como ocorre em plantas hospedeiras primárias (GEORGE et al., 2020). Pesquisas mostram que algumas plantas daninhas que não pertencem à Família Rutacea, em pomares de citros podem ser hospedeiros alternativos e fornecer alimentos temporários para *D. citri* (HALL et al., 2009; JOHNSTON; STANSLY; STELINSKI, 2019).

### **1.6. Diversificação de culturas em Minas Gerais**

Diferentemente do estado de São Paulo, as áreas de produção de tangerina no sul do estado de Minas Gerais têm uma diversificação de culturas, dentre as quais, podemos mencionar o café. Essa cultura é considerada uma das mais importantes do Brasil, sendo o Estado de Minas Gerais o maior produtor de café no país com 50% da produção dos 59.9 milhões de sacas na safra brasileira do ano 2018 (IBGE, 2017; CONAB, 2018). O Estado também é o segundo maior produtor de abacate, com 52 mil toneladas anuais (IBGE, 2017; BARROS, 2019). Em menor escala, o cultivo do maracujá possui uma área de produção de 1.578 hectares, sendo o quarto Estado produtor do Brasil (IBGE, 2017). A diversificação agrícola é uma prática comum no Sul de Minas Gerais tendo como principais culturas perenes: O café, tangerina, abacate e, em menor quantidade, o maracujá (FERREIRA, 2020).

## 2. REFERENCIAS

ALQUÉZAR, B.; VOLPE, H. X. L.; MAGNANI, R. F.; DE MIRANDA, M. P.; SANTOS, M. A.; WULFF, N. A.; BENTO, J. M. S.; PARRA, J. R. P.; BOUWMEESTER, H.; PEÑA, L.  $\beta$ -caryophyllene emitted from a transgenic *Arabidopsis* or chemical dispenser repels *Diaphorina citri*, vector of *Candidatus Liberibacter*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 5639, 17 dez. 2017. doi: 10.1038/s41598-017-06119-w. Acesso em: 7 out. 2018.

ALVES, G. R.; DINIZ, A. J. F.; PARRA, J. R. P. Biology of the Huanglongbing Vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on Different Host Plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 691–696, 1 abr. 2014. doi: 10.1603/EC13339. Acesso em: 2 out. 2018.

AMMAR, E.-D.; RAMOS, J. E.; HALL, D. G.; DAWSON, W. O.; SHATTERS, R. G. Acquisition, Replication and Inoculation of *Candidatus Liberibacter asiaticus* following Various Acquisition Periods on Huanglongbing-Infected Citrus by Nymphs and Adults of the Asian Citrus Psyllid. **PLOS ONE**, v. 11, n. 7, p. e0159594, 21 jul. 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0159594. Acesso em: 25 set. 2018.

AUBERT, B. Trioza erytrae Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible. **Fruits**, v. 42, p. 142–162, 1987. . Acesso em: 1 out. 2018.

AUSIQUE, J. J. S. **Desenvolvimento de estratégias para incorporação de fungos entomopatogênicos no manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) na cultura dos citros**. 2014. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014. doi: 10.11606/T.11.2014.tde-15092014-101020. Acesso em: 6 out. 2018.

BARMAN, J. C.; CAMPBELL, S. A.; ZENG, X. Exposure to Guava Affects Citrus Olfactory Cues and Attractiveness to *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Environmental Entomology**, v. 45, n. 3, p. 694–699, 30 jun. 2016. doi: 10.1093/ee/nvw010. Acesso em: 22 ago. 2018.

BARROS, L. A. **Celebrada por Bolsonaro, produção de abacate é destaque em Minas**. . Acesso em: 8 fev. 2020.

BEALE, M. H.; BIRKETT, M. A.; BRUCE, T. J. A.; CHAMBERLAIN, K.; FIELD, L. M.; HUTTLY, A. K.; MARTIN, J. L.; PARKER, R.; PHILLIPS, A. L.; PICKETT, J. A.; PROSSER, I. M.; SHEWRY, P. R.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M.; ZHANG, Y. Aphid alarm pheromone produced by transgenic plants affects aphid and parasitoid behavior. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 27, p. 10509–10513, 5 jul. 2006. doi: 10.1073/pnas.0603998103. Acesso em: 17 nov. 2018.

BELOTI, V. H.; ALVES, G. R.; COLETTA-FILHO, H. D.; YAMAMOTO, P. T. The Asian Citrus Psyllid Host *Murraya koenigii* Is Immune to Citrus Huanglongbing Pathogen ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’. **Phytopathology**, v. 108, n. 9, p. 1089–1094, 2 set. 2018. doi: 10.1094/PHYTO-01-18-0012-R. Acesso em: 4 out. 2018.

CÁZARES ALONSO, N. P.; VERDE STAR, M. J.; LÓPEZ ARROYO, J. I.; ALMEYDALEÓN, I. H. Evaluación de diferentes extractos vegetales contra el psílido asiático



de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Revista Colombiana de entomología**, v. 40, n. 1, 2014.

CEN, Y.; YE, J.; XU, C.; FENG, A. The taxis of *Diaphorina citri* to the volatile oils extracted from non-host plants. **Journal of South China Agricultural University**, v. 26, n. 3, p. 41–44, 2005. . Acesso em: 16 nov. 2018.

CHEN, H.-C.; SHEU, M.-J.; LIN, L.-Y.; WU, C.-M. Chemical Composition of the Leaf Essential Oil of *Psidium guajava* L. from Taiwan. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 4, p. 345–347, jul. 2007. doi: 10.1080/10412905.2007.9699300. Acesso em: 17 nov. 2018.

CIFUENTES-ARENAS, J. C.; DE GOES, A.; DE MIRANDA, M. P.; BEATTIE, G. A. C.; LOPES, S. A. Citrus flush shoot ontogeny modulates biotic potential of *Diaphorina citri*. **PLOS ONE**, v. 13, n. 1, p. e0190563, 5 jan. 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0190563. Acesso em: 1 out. 2018.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: café**: 4. [s.l: s.n.]. . Acesso em: 23 nov. 2018.

CONCESCHI, M. R. **Parâmetros a serem considerados nas pulverizações do fungo *Isaria fumosorosea* para o manejo de *Diaphorina citri***. 2017. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2017. doi: 10.11606/T.11.2017.tde-29082017-091810. Acesso em: 6 out. 2018.

COOK, S. M.; KHAN, Z. R.; PICKETT, J. A. The Use of Push-Pull Strategies in Integrated Pest Management. **Annual Review of Entomology**, v. 52, n. 1, p. 375–400, 12 jan. 2007. doi: 10.1146/annurev.ento.52.110405.091407. Acesso em: 16 nov. 2018.

COUTINHO-ABREU, I. V.; FORSTER, L.; GUDA, T.; RAY, A. Odorants for Surveillance and Control of the Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*). **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. e109236, 27 out. 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0109236. Acesso em: 17 nov. 2018.

DINIZ, A. J. F. **Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estab.** 2013. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013. doi: 10.11606/T.11.2013.tde-22082013-164659. Acesso em: 1 out. 2018.

FANCELLI, M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Attractiveness of Host Plant Volatile Extracts to the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri*, is Reduced by Terpenoids from the Non-Host Cashew. **Journal of Chemical Ecology**, v. 44, n. 4, p. 397–405, 2 abr. 2018. doi: 10.1007/s10886-018-0937-1. Acesso em: 7 out. 2018.

FERREIRA, E. A. Panorama da citricultura brasileira. **Informe Agropecuario**, v. 35, p. 7–16, 2014.

FERREIRA, E. A. Greening em Minas Gerais: Situação atual e perspectiva para controle. In: Apresentação de Trabalho/Conferência ou palestra, **Anais...EPAMIG**, 2016.

FERREIRA, E. A. Diversificação agrícola em Minas gerais. In: comunicação pessoal, Lavras. **Anais... Lavras**: 2020.

FUNDECITRUS. **Levantamento de doenças dos citros: HLB, CVC e Cancro cítrico/ Fundo de Defesa da Citricultura.** [s.l: s.n.]. . Acesso em: 2 out. 2018.

GEORGE, J.; KANISSERY, R.; AMMAR, E.-D.; CABRAL, I.; MARKLE, L. T.; PATT, J. M.; STELINSKI, L. L. Feeding Behavior of Asian Citrus Psyllid [*Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)] Nymphs and Adults on Common Weeds Occurring in Cultivated Citrus Described Using Electrical Penetration Graph Recordings. **Insects**, v. 11, n. 1, p. 48, 10 jan. 2020. doi: 10.3390/insects11010048. Acesso em: 7 fev. 2020.

GOTTWALD, T. R. Current Epidemiological Understanding of Citrus Huanglongbing. **Annual Review of Phytopathology**, v. 48, n. 1, p. 119–139, 5 jul. 2010. doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114418. Acesso em: 25 set. 2018.

GRAFTON-CARDWELL, E. E.; STELINSKI, L. L.; STANSLY, P. A. Biology and Management of Asian Citrus Psyllid, Vector of the Huanglongbing Pathogens. **Annual Review of Entomology**, v. 58, n. 1, p. 413–432, 7 jan. 2013. doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153542. Acesso em: 11 set. 2018.

HALBERT, S. E.; MANJUNATH, K. L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in florida. [http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0330:ACPSPA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0330:ACPSPA]2.0.CO;2), 2 set. 2009. doi: 10.1653/0015-4040(2004)087[0330:ACPSPA]2.0.CO;2. Acesso em: 9 set. 2018.

HALL, D. G.; GOTTWALD, T. R.; NGUYEN, N. C.; ICHINOSE, K.; LE, Q. D.; BEATTIE, G. A.; STOVER, E. Greenhouse investigations on the effect of guava on infestations of Asian citrus psyllid in grapefruit. In: Proceedings of the Annual Meeting of the Florida State Horticultural Society, **Anais...2009**.

HALL, D. G.; LAPOINTE, S. L.; WENNINGER, E. J. Effects of a Particle Film on Biology and Behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and Its Infestations in Citrus. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 3, p. 847–854, 1 jun. 2007. doi: 10.1093/jee/100.3.847. Acesso em: 11 set. 2018.

HALL, D. G.; RICHARDSON, M. L.; AMMAR, E.-D.; HALBERT, S. E. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 146, n. 2, p. 207–223, 1 fev. 2013. doi: 10.1111/eea.12025. Acesso em: 5 out. 2018.

HELD, D. W.; GONSISKA, P.; POTTER, D. A. Evaluating companion planting and non-host masking odors for protecting roses from the Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). **Journal of economic entomology**, v. 96, n. 1, p. 81–7, fev. 2003. . Acesso em: 16 nov. 2018.

HOOKS, C. R. R.; JOHNSON, M. W. Impact of agricultural diversification on the insect community of cruciferous crops. **Crop Protection**, v. 22, n. 2, p. 223–238, 1 mar. 2003. doi: 10.1016/S0261-2194(02)00172-2. Acesso em: 15 nov. 2018.

HOY, M. A.; SINGH, R.; ROGERS, M. E. Evaluations of a Novel Isolate of *Isaria fumosorosea* for Control of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 93, n. 1, p. 24–32, 25 mar. 2010. doi: 10.1653/024.093.0103. Acesso em: 6 out. 2018.

IBGE. Censo agropecuário: resultados definitivos 2017. **Instituto Brasileiro de Geografia y Estadística**, p. 1, 2017. . Acesso em: 20 nov. 2018.

ICHINOSE, K.; HOA, N. V.; BANG, D. V.; TUAN, D. H.; DIEN, L. Q. Limited efficacy of guava interplanting on citrus greening disease: Effectiveness of protection against disease invasion breaks down after one year. **Crop Protection**, v. 34, p. 119–126, abr. 2012. doi: 10.1016/j.cropro.2011.11.023. Acesso em: 7 out. 2018.

ISAACS, R.; HARDIE, J.; HICK, A. J.; PYE, B. J.; SMART, L. E.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Behavioural responses of *Aphis fabae* to isothiocyanates in the laboratory and field. **Pesticide Science**, v. 39, n. 4, p. 349–355, 1 jan. 1993. doi: 10.1002/ps.2780390416. Acesso em: 16 nov. 2018.

JOHNSTON, N.; STANSLY, P. A.; STELINSKI, L. L. Secondary hosts of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama: Survivorship and preference. **Journal of Applied Entomology**, v. 143, n. 9, p. 921–928, 23 nov. 2019. doi: 10.1111/jen.12673. Acesso em: 4 jan. 2020.

MANN, R. S.; ALI, J. G.; HERMANN, S. L.; TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K. S.; ALBORN, H. T.; STELINSKI, L. L. Induced Release of a Plant-Defense Volatile ‘Deceptively’ Attracts Insect Vectors to Plants Infected with a Bacterial Pathogen. **PLoS Pathogens**, v. 8, n. 3, p. e1002610, 22 mar. 2012a. doi: 10.1371/journal.ppat.1002610. Acesso em: 5 out. 2018.

MANN, R. S.; ROUSEFF, R. L.; SMOOT, J. M.; CASTLE, W. S.; STELINSKI, L. L. Sulfur volatiles from *Allium* spp. affect Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), response to citrus volatiles. **Bulletin of Entomological Research**, v. 101, n. 01, p. 89–97, 8 fev. 2011. doi: 10.1017/S0007485310000222. Acesso em: 15 nov. 2018.

MANN, R. S.; TIWARI, S.; SMOOT, J. M.; ROUSEFF, R. L.; STELINSKI, L. L. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 136, n. 1–2, p. 87–96, 1 fev. 2012b. doi: 10.1111/j.1439-0418.2010.01592.x. Acesso em: 7 out. 2018.

MCCALLUM, E. J.; CUNNINGHAM, J. P.; LÜCKER, J.; ZALUCKI, M. P.; DE VOSS, J. J.; BOTELLA, J. R. Increased plant volatile production affects oviposition, but not larval development, in the moth *Helicoverpa armigera*. **The Journal of experimental biology**, v. 214, n. Pt 21, p. 3672–7, 1 nov. 2011. doi: 10.1242/jeb.059923. Acesso em: 17 nov. 2018.

NASCIMENTO, P. A. **Citometria de fluxo e anatomia caulinar como indicadores de compatibilidade de mudas cítricas**. 2017. RIUFLA Repositório Institucional da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2017. . Acesso em: 3 out. 2018.

NAVA, D. E.; TORRES, M. L. G.; RODRIGUES, M. D. L.; BENTO, J. M. S.; PARRA, J. R. P. Biology of *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9–10, p. 709–715, 1 dez. 2007. doi: 10.1111/j.1439-0418.2007.01230.x. Acesso em: 1 out. 2018.

NOTTINGHAM, S. F.; HARDIE, J.; DAWSON, G. W.; HICK, A. J.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J.; WOODCOCK, C. M. Behavioral and electrophysiological responses of Aphids to host and nonhost plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, n. 6, p. 1231–1242, jun. 1991. doi: 10.1007/BF01402946. Acesso em: 17 nov. 2018.

OGUNWANDE, I. A.; OLAWORE, N. O.; ADELEKE, K. A.; EKUNDAYO, O.; KOENIG, W. A. Chemical composition of the leaf volatile oil of *Psidium guajava* L. growing in Nigeria. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 18, n. 2, p. 136–138, 1 mar. 2003. doi: 10.1002/ffj.1175. Acesso em: 17 nov. 2018.

ONAGBOLA, E. O.; ROUSEFF, R. L.; SMOOT, J. M.; STELINSKI, L. L. Guava leaf volatiles and dimethyl disulphide inhibit response of *Diaphorina citri* Kuwayama to host plant volatiles. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, n. 6, p. 404–414, jul. 2011. doi: 10.1111/j.1439-0418.2010.01565.x. Acesso em: 14 nov. 2018.

ORDUÑO-CRUZ, N.; GUZMÁN-FRANCO, A. W.; RODRÍGUEZ-LEYVA, E.; ALATORRE-ROSAS, R.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, H.; MORA-AGUILERA, G. In vivo selection of entomopathogenic fungal isolates for control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Biological Control**, v. 90, p. 1–5, 1 nov. 2015. doi: 10.1016/J.BIOCONTROL.2015.05.011. Acesso em: 6 out. 2018.

OROZCO-SANTOS, M.; ROBLES-GONZÁLEZ, M.; HERNÁNDEZ-FUENTES, L. M.; VELÁZQUEZ-MONREAL, J. J.; BERMUDEZ-GUZMÁN, M. de J.; MANZANILLA-RAMÍREZ, M.; MANZO-SÁNCHEZ, G.; NIETO-ÁNGEL, D. Uso de Aceites y Extractos Vegetales para el Control de *Diaphorina citri* Kuwayama en Lima Mexicana en el Trópico Seco de México. **Southwestern Entomologist**, v. 41, n. 4, p. 1051–1066, 17 dez. 2016. doi: 10.3958/059.041.0405. Acesso em: 15 nov. 2018.

PAIVA, P. E. B.; PARRA, J. R. P. Life Table Analysis of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) Infesting Sweet Orange ( *Citrus sinensis* ) in São Paulo. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 2, p. 278–284, jun. 2012. doi: 10.1653/024.095.0206. Acesso em: 6 out. 2018.

PARRA, J. R. P.; ALVES, G. R.; DINIZ, A. J. F.; VIEIRA, J. M. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): Mass Rearing and Potential Use of the Parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 7, n. 1, p. 5, 1 jan. 2016. doi: 10.1093/jipm/pmw003. Acesso em: 5 out. 2018.

PATT, J. M.; ROBBINS, P. S.; NIEDZ, R.; MCCOLLUM, G.; ALESSANDRO, R. Exogenous application of the plant signalers methyl jasmonate and salicylic acid induces changes in volatile emissions from citrus foliage and influences the aggregation behavior of Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*), vector of Huanglongbing. **PLOS ONE**, v. 13, n. 3, p. e0193724, 29 mar. 2018. doi: 10.1371/journal.pone.0193724. Acesso em: 7 out. 2018.

PATT, J. M.; SÉTAMOU, M. Responses of the Asian Citrus Psyllid to Volatiles Emitted by the Flushing Shoots of Its Rutaceous Host Plants. **Environmental Entomology**, v. 39, n. 2, p. 618–624, 1 abr. 2010. doi: 10.1603/EN09216. Acesso em: 22 ago. 2018.

ROBBINS, P. S.; ALESSANDRO, R. T.; STELINSKI, L. L.; LAPOINTE, S. L. Volatile Profiles of Young Leaves of Rutaceae spp. Varying In Susceptibility to the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 95, n. 3, p. 774–776, 18 set. 2012. doi: 10.1653/024.095.0331. Acesso em: 7 out. 2018.

ROUSEFF, R. L.; ONAGBOLA, E. O.; SMOOT, J. M.; STELINSKI, L. L. Sulfur Volatiles in Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Possible Defense Mechanism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 8905–8910, 8 out. 2008. doi: 10.1021/jf801735v. Acesso em: 14 nov. 2018.

RUAN, C.-Q.; HALL, D. G.; LIU, B.; DUAN, Y.-P.; LI, T.; HU, H.-Q.; FAN, G.-C. Host-Choice Behavior of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) Under Laboratory Conditions. **Journal of Insect Behavior**, v. 28, n. 2, p. 138–146, 25 mar. 2015. doi: 10.1007/s10905-015-9488-2. Acesso em: 16 nov. 2018.

SCHRÖDER, R.; HILKER, M. The Relevance of Background Odor in Resource Location by Insects: A Behavioral Approach. **BioScience**, v. 58, n. 4, p. 308–316, 1 abr. 2008. doi: 10.1641/B580406. Acesso em: 15 nov. 2018.

SEO, M.; RIVERA, M. J.; STELINSKI, L. L. Trail Chemicals of the Convergens Ladybird Beetle, *Hippodamia convergens*, Reduce Feeding and Oviposition by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) on Citrus Plants. **Journal of Insect Behavior**, v. 31, n. 3, p. 298–308, 17 maio 2018. doi: 10.1007/s10905-018-9680-2. Acesso em: 25 set. 2018.

SILVA, J. A. A.; HALL, D. G.; GOTTWALD, T. R.; ANDRADE, M. S.; MALDONADO, W.; ALESSANDRO, R. T.; LAPOINTE, S. L.; ANDRADE, E. C.; MACHADO, M. A. Repellency of selected *Psidium guajava* cultivars to the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. **Crop Protection**, v. 84, p. 14–20, 1 jun. 2016. doi: 10.1016/J.CROPRO.2016.02.006. Acesso em: 7 out. 2018.

SOUTO, I. **Mexerica ganha espaço nas fazendas mineiras**. . Acesso em: 3 out. 2018.

STOCKTON, D. G.; MARTINI, X.; PATT, J. M.; STELINSKI, L. L. The Influence of Learning on Host Plant Preference in a Significant Phytopathogen Vector, *Diaphorina citri*. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0149815, 1 mar. 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0149815. Acesso em: 7 out. 2018.

STOCKTON, D.; MARTINI, X.; STELINSKI, L.; STOCKTON, D. G.; MARTINI, X.; STELINSKI, L. L. Male Psyllids Differentially Learn in the Context of Copulation. **Insects**, v. 8, n. 1, p. 16, 7 fev. 2017. doi: 10.3390/insects8010016. Acesso em: 11 set. 2018.

THIERY, D.; VISSER, J. H. Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 41, n. 2, p. 165–172, 1 jun. 1986. doi: 10.1111/j.1570-7458.1986.tb00524.x. Acesso em: 15 nov. 2018.

THIERY, D.; VISSER, J. H. Misleading the Colorado potato beetle with an odor blend. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, n. 5, p. 1139–1146, maio 1987. doi: 10.1007/BF01020544. Acesso em: 15 nov. 2018.

TOGNI, P. H. B.; LAUMANN, R. A.; MEDEIROS, M. A.; SUJII, E. R. Odour masking of tomato volatiles by coriander volatiles in host plant selection of *Bemisia tabaci* biotype B. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 136, n. 2, p. 164–173, 5 jul. 2010. doi: 10.1111/j.1570-7458.2010.01010.x. Acesso em: 15 nov. 2018.

USDA. **Citrus: World Markets and Trade**. . Acesso em: 2 out. 2018.

VALVERDE, M. **Lavouras de laranja avançam em Minas**. . Acesso em: 3 out. 2018.

WENNINGER, E. J.; HALL, D. G. Importance of multiple mating to female reproductive output in *Diaphorina citri*. **Physiological Entomology**, v. 33, n. 4, p. 316–321, 1 dez. 2008. doi: 10.1111/j.1365-3032.2008.00633.x. Acesso em: 5 out. 2018.

WENNINGER, E. J.; HALL, D. G. Daily Timing of Mating and Age at Reproductive Maturity in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). [http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040\(2007\)90\[715:DTOMAA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040(2007)90[715:DTOMAA]2.0.CO;2), 2 set. 2009. doi: 10.1653/0015-4040(2007)90[715:DTOMAA]2.0.CO;2. Acesso em: 21 ago. 2018.

WENNINGER, E. J.; STELINSKI, L. L.; HALL, D. G. Roles of Olfactory Cues, Visual Cues, and Mating Status in Orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to Four Different Host Plants. **Environmental Entomology**, v. 38, n. 1, p. 225–234, 1 fev. 2009. doi: 10.1603/022.038.0128. Acesso em: 22 ago. 2018.

WU, F.; HUANG, J.; XU, M.; FOX, E. G. P.; BEATTIE, G. A. C.; HOLFORD, P.; CEN, Y.; DENG, X. Host and environmental factors influencing ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ acquisition in *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, 7 jul. 2018. doi: 10.1002/ps.5060. Acesso em: 5 out. 2018.

YAN, H.; ZENG, J.; ZHONG, G. The push-pull strategy for citrus psyllid control. **Pest Management Science**, v. 71, n. 7, p. 893–896, 1 jul. 2015. doi: 10.1002/ps.3915. Acesso em: 21 ago. 2018.

YANG, Y.; BEATTIE, G. A. C.; SPOONER-HART, R. N.; HUANG, M.; BARCHIA, I.; HOLFORD, P. Influences of leaf age and type, non-host volatiles, and mineral oil deposits on the incidence, distribution, and form of stylet tracks of *Diaphorina citri*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 147, n. 1, p. 33–49, 1 abr. 2013. doi: 10.1111/eea.12046. Acesso em: 17 nov. 2018.

ZAKA, S. M.; ZENG, X.-N.; HOLFORD, P.; BEATTIE, G. A. C. Repellent effect of guava leaf volatiles on settlement of adults of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. **Insect Science**, v. 17, n. 1, p. 39–45, 1 fev. 2010. doi: 10.1111/j.1744-7917.2009.01271.x. Acesso em: 7 out. 2018.

ZANARDI, O. Z.; VOLPE, H. X. L.; FAVARIS, A. P.; SILVA, W. D.; LUVIZOTTO, R. A. G.; MAGNANI, R. F.; ESPERANÇA, V.; DELFINO, J. Y.; DE FREITAS, R.; MIRANDA, M. P.; PARRA, J. R. P.; BENTO, J. M. S.; LEAL, W. S. Putative sex pheromone of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, breaks down into an attractant. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 455, 11 dez. 2018. doi: 10.1038/s41598-017-18986-4. Acesso em: 1 nov. 2018.

ZHANG, Q.-H.; SCHLYTER, F. Olfactory recognition and behavioural avoidance of angiosperm nonhost volatiles by conifer-inhabiting bark beetles. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 6, n. 1, p. 1–20, fev. 2004. doi: 10.1111/j.1461-9555.2004.00202.x. Acesso em: 15 nov. 2018.

## SEGUNDA PARTE: ARTIGO

**Efeito de plantas não hospedeiras associadas com a tangerineira *Citrus reticulata* Blanco na seleção hospedeira e sobrevivência de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)**

Marvin Pec<sup>1</sup>; Ester Alice Fereria<sup>2</sup>; Maria Fernanda Gomes Villalba Peñaflor<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Campus Universitário, CEP 37200-000

<sup>2</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Lavras- MG, Brasil, CEP 37200-000

\* *Autor correspondente:* Departamento de Entomologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Telefone (35) 3829- 5128/ (35) 3829-1287

Email: fernanda.penaflor@ufla.br

## 1. RESUMO

*Diaphorina citri* é o vetor do ‘*Candidatus Liberibacter*’ spp., agentes etiológicos do Huanglongbing (HLB). A exploração do manejo comportamental do inseto através dos voláteis da planta uma opção, uma vez que o consórcio com plantas não hospedeiras pode reduzir a atratividade e, conseqüentemente, a colonização dos pomares de tangerina pelo inseto. O presente estudo investigou se a localização da tangerineira ‘Ponkan’ *Citrus reticulata* pelo psilídeo é alterada quando associada aos voláteis das plantas não hospedeiras *Coffea arabica*, *Persea americana* e *Passiflora edulis*, e se essas espécies podem abrigar temporariamente os psilídeos. Ensaio comportamentais mostraram que mudas de tangerineira associadas com os voláteis de plantas de abacate prejudicam a localização do hospedeiro pelo psilídeo, pois reduziu entre 36 e 68% os insetos que estavam na planta hospedeira. Já a associação com os voláteis da planta de maracujá facilitou a localização do hospedeiro, pois os insetos localizaram a tangerineira mais rapidamente em relação ao tratamento da tangerineira sozinha. A associação com os voláteis da planta de café, por sua vez, não alterou a atratividade da tangerineira para o psilídeo em relação ao tratamento com apenas a tangerineira ‘Ponkan’. Em ensaios sem chance de escolha, avaliou-se a mortalidade acumulada dos psilídeos nas plantas hospedeira e não hospedeiras, e providos somente com água. Os tempos letais 50 (TL50) para os psilídeos foram entre 1,7 e 2,39 vezes maiores nas plantas não hospedeiras quando comparados aos psilídeos providos somente com água, porém entre 3.48 e 4.82 vezes menores ao da tangerineira. Nossos resultados indicam que a planta de abacate é promissora manejo integrado do psilídeo, pois, aparentemente mascara os voláteis da planta hospedeira, além de ser um hospedeiro pouco adequado para *D. citri*.

**Palavras chave:** Psilídeo-asiático-dos-citros, ‘Ponkan’, abacate, sobrevivência, citros.



## 2. ABSTRACT

*Diaphorina citri* is the vector of 'Candidatus Liberibacter' spp., The etiologic agents of Huanglongbing (HLB). The exploration of the behavioral management of the insect through the volatiles of the plant is an option, since the consortium with non-host plants can reduce the attractiveness and, consequently, the colonization of the mandarin orchards by the insect. The present study investigated whether the location of the 'Ponkan' mandarin *Citrus reticulata* by the psyllid is altered when associated with the volatiles of non-host plants *Coffea arabica*, *Persea americana* and *Passiflora edulis*, and whether these species may temporarily house the psyllids. Behavioral tests showed that tangerine seedlings associated with avocado plant volatiles impair the host's location by the psyllid, as it reduced between 36 and 68% the insects that were in the host plant. The association with the volatiles of the passion fruit plant facilitated the location of the host, since the insects located the mandarin tree more quickly in relation to the treatment of the mandarin tree alone. The association with the volatiles of the coffee plant, in turn, did not alter the attractiveness of the mandarin tree to the psyllid in relation to the treatment with only the 'Ponkan' mandarin tree. In trials with no chance of choice, the accumulated mortality of psyllids in host and non-host plants was evaluated, and provided with water only. Lethal times 50 (TL50) for psyllids were between 1.7 and 2.39 times longer in non-host plants when compared to psyllids provided with water alone, but between 3.48 and 4.82 times shorter than the mandarin tree. Our results indicate that the avocado plant is a promising integrated management of the psyllid, as it apparently masks the volatiles of the host plant, in addition to being an inadequate host for *D. citri*.

**Key words:** Asian citrus psyllid, masking, non-host plants, survival, citrus.

### 3. INTRODUÇÃO

A doença Huanglongbing (*Greening*/HLB) é causada pelas bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* (Ammar et al., 2016). O dano da doença nos pomares é a queda, deformação e gosto amargo dos frutos, reduzindo a produção das plantas de 30% até 100%, levando a sua morte entre cinco à oito anos depois (Hall et al., 2007, 2013; Wenninger and Hall, 2008; Gottwald, 2010; Ammar et al., 2016), sendo o psílideo-asiático-dos-citros, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), o principal vetor em pomares citrícolas no Brasil, EUA, México e Belize (Wenninger and Hall, 2009; Grafton-Cardwell et al., 2013).

O controle da doença é feita basicamente em duas vertentes. A primeira é a remoção das plantas de citrus com a bactéria e eliminação de plantas sem manejo em torno das fazendas (Halbert and Manjunath, 2009; Hall et al., 2013; Fundecitrus, 2019). A segunda consiste na redução da população do vetor e é feito através da aplicação de inseticidas químicos. No entanto, esse método tem limitações, pois em áreas urbanas existem plantas hospedeiras e fazendas com manejo orgânico. Em razão disso, também são utilizadas ferramentas biológicas, como o parasitoide ninfal *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae) (Nava et al., 2007; Halbert and Manjunath, 2009; Diniz, 2013; Parra et al., 2016) e microrganismos entomopatogênicos como *Isaria fumosorosea* (Wize) (Hoy et al., 2010; Ausique, 2014; Orduño-Cruz et al., 2015; Conceschi, 2017).

As táticas atualmente empregadas no manejo de *D. citri* ainda são insuficientes para a redução das populações. Por isso, são necessários mais esforços para desenvolver estratégias que possam ser incluídas ao manejo integrado do psílideo, como por exemplo, aquelas que exploram compostos orgânicos voláteis (COVs) emitidos pelas plantas. Hoje, sabe-se que, além de estímulos visuais, os COVs, como  $\beta$ -ocimeno e D-limoneno, são necessários para o psílideo localizar a sua planta hospedeira (Wenninger et al., 2009; Rajinder S. Mann et al., 2012; Cifuentes-Arenas et al., 2018).

Devido à sensibilidade de *D. citri* aos voláteis, algumas espécies de plantas não hospedeiras podem ser utilizadas nos pomares citrícolas com o objetivo de repelir o inseto, ou reduzir a atratividade dos plantios. São conhecidas algumas plantas repelentes (Hall et al., 2009; Barman et al., 2016; Fancelli et al., 2018), porém a goiabeira *Psidium guajava* L. (Fam. Myrtaceae) é a mais conhecida (Zaka et al., 2010; Onagbola et al., 2011; Magnani, 2017). Nas

avaliações em pomares onde foram plantadas na proporção de 1: 1 de citros e goiaba, foi observada uma redução de 20% na infecção pela doença HLB nos primeiros dois anos, em relação aos pomares que possuíam apenas citros (Ichinose et al., 2012; Barman et al., 2016). Inicialmente, a repelência da goiabeira foi atribuída à emissão de uma mistura de sulfatos de dimetila (DMDS) (Ogunwande et al., 2003; Chen et al., 2007), mas o (*E*)- $\beta$ -cariofileno também destaca-se como repelente ao psílideo, apesar de ser também emitido pelo citros, está presente em maiores concentrações na mistura de VOCs emitido pela planta de goiaba (Chen et al., 2007; Silva et al., 2016; Alquézar et al., 2017; Patt et al., 2018). Recentemente, o papel do (*E*)- $\beta$ -cariofileno na repelência de *D. citri* foi demonstrado usando uma planta de *Arabidopsis* transgênica que emite maiores concentrações de (*E*)- $\beta$ -cariofileno (Alquézar et al., 2017).

A seleção de plantas não hospedeiras repelentes ou que reduzam a atratividade do pomar de citros pode também ser explorada em um sistema de *push-pull*, que integra um elemento repelente (planta não hospedeira) no centro da área, consorciado com o cultivo, e outro elemento atraente na bordadura (Cook et al., 2007; Yan et al., 2015). No sistema do citros, a planta de curry *Murraya koenigii* (L.) Spreng (Rutaceae) parece ser promissora para ser usada na bordadura, uma vez que é altamente atrativa para o psílideo e imune ao HLB (Beloti et al., 2018).

Além da repelência, a redução da atratividade do plantio para o inseto pode ocorrer por meio do mascaramento dos odores da planta hospedeira ao se misturar com os da planta não hospedeira, dificultando a detecção e localização da planta hospedeira (Thiery and Visser, 1986, 1987; Schröder and Hilker, 2008; Togni et al., 2010). Há poucos estudos que demonstram o mascaramento do odor da planta de citros para o psílideo. Um deles é o consórcio dos citros com a planta ornamental *Rhododendron simsii* Planch. (Ericaceae), com a presença dela a chegada do psílideo ao citros demora até 18 horas (Ruan et al., 2015).

Diferentemente do estado de São Paulo, a tangerineira ‘Ponkan’ *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) é a mais produzida nos pomares em Minas Gerais e são geralmente diversificadas com outras culturas, como café, abacate e maracujá. Essas plantas não hospedeiras podem influenciar na colonização dos psílideos nos pomares, porém nada se sabe sobre as interações do psílideo vetor do HLB com essas espécies de plantas. Além disso, a maior parte dos estudos tratam da interação do psílideo com as laranjeiras ‘Valência’, ‘Pêra’ e ‘Hamlin’ *Citrus sinensis* e são escassas as informações sobre a tangerineira ‘Ponkan’ como hospedeira do psílideo. A infestação por *D. citri* e a incidência do *Greening* nos pomares do

estado de Minas Gerais, no qual a tangerineira ‘Ponkan’ predomina, também é pouco conhecida. São parcialmente conhecidos os dados do Triângulo/Sudoeste Mineiro que, em 2018 juntamente com o estado de São Paulo, teve 18%, em média, ou aproximadamente 35 milhões de árvores infectadas pelo *Greening* (Fundecitrus, 2018).

Dentro deste contexto, o presente projeto teve como objetivo investigar se os COVs das plantas de café *Coffea arabica* L. variedade Novo mundo, (Rubiaceae), abacate *Persea americana* Mill. (Lauraceae) e maracujá *Passiflora edulis* Sims. (Passifloraceae) prejudicam ou facilitam a localização hospedeira da tangerina pela *D. citri*. Outro aspecto importante das plantas não hospedeiras é determinar se elas podem fornecer abrigo ou servir como fonte temporária de alimento para o psílideo. Por não constituírem plantas hospedeiras, a hipótese inicial foi que a associação com as plantas de abacate, café ou maracujá reduzisse a atratividade das tangerinas, e que essas espécies não provessessem alimento adequado para o psílideo. O estudo fornece informações que podem subsidiar o cultivo consorciado de tangerina com outras culturas de importância econômica que não favoreçam a colonização pela *D. citri*.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Psílideo-asiático-dos-citros

Indivíduos adultos de *D. citri* foram inicialmente obtidos da criação do Laboratório de Biologia e Controle Biológico de Insetos (ESALQ/USP, Piracicaba, SP) e colocados em gaiolas (80 x 50 x 40 cm) com mudas de *Murraya paniculata* (L.) Jack (Rubiaceae), que serviram de hospedeiro para alimentação e oviposição. A criação foi mantida em sala climatizada ( $24 \pm 2$  °C, UR  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 14h) no laboratório de Entomologia/Acarologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG/Sul de Minas, Lavras, MG) (Figura 1). As mudas de *M. paniculata* foram obtidas de viveiros e, posteriormente, levadas à casa de vegetação para aclimação. O manejo agrônomo foi de poda, irrigação e adubação de uma solução ao 1% de N-P-K (20-20-20) em intervalos de duas vezes por mês.

### 4.2. Plantas hospedeiras primárias e secundárias

A planta hospedeira utilizada foi a tangerineira ‘Ponkan’ *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) e as plantas não hospedeiras foram café *Coffea arabica* L. variedade Novo Mundo (Rubiaceae), abacate *Persea americana* Mill. (Lauraceae) e maracujá *Passiflora edulis* Sims.

(Passifloraceae) com idades de 12, 7, 12 e 4 meses, respectivamente. As mudas de tangerineiras, abacate e maracujá tinham uma altura de 20-30 cm no momento de sua utilização nos ensaios

As mudas foram obtidas de viveiros certificados para garantir que não estivessem infestadas por pragas ou infectadas por doenças. As mudas foram mantidas em casa de vegetação (sem controle de temperatura, umidade ou luz) até a utilização nos testes. O manejo agrônômico básico foi a irrigação, além de adubações mensais da fórmula N-P-K (20-20-20). As plantas de tangerina foram analisadas pelo teste qPCR, que confirmou a ausência da doença HLB (Anexo 1).

### **4.3. Bioensaios de olfatosmetria**

A adequação do olfatômetro em “Y” (15 cm de cada braço e 4 cm de diâmetro) para avaliação da resposta olfativa de *D. citri* foi testada frente aos odores da tangerineira *versus* o ar limpo. Fêmeas de 7-14 dias de idade, privadas de alimentos por 2 h, foram utilizadas (Alquézar et al., 2017; Beloti et al., 2017). O olfatômetro foi posicionado verticalmente à superfície da bancada para que os psílídeo iniciassem o caminhar mais rapidamente (Beloti et al., 2017). As mudas foram ensacadas, individualmente, com sacos de polietileno tereftalato (PET) (41 cm x 33 cm), que foram conectados ao sistema de olfatosmetria por mangueiras de silicone. O tratamento ar limpo consistiu em um saco de polietileno tereftalato vazio. Uma bomba compressora de ar empurrou o ar do ambiente no sistema, passando-o por um filtro de carvão ativado e umidificador. O fluxo de ar limpo e umidificado, a 1 L.min<sup>-1</sup>, foi conduzido aos tratamentos (muda de tangerineira e ar limpo) e braços laterais do olfatômetro.

Os bioensaios foram conduzidos nos horários de maior atividade de *D. citri*, entre 10:00 e 16:00 (Wenninger et al., 2009; Patt and Sétamou, 2010; Beloti et al., 2017), no laboratório, em condições controladas de temperatura e umidade ( $24 \pm 2$  ° C e UR:  $70 \pm 10\%$ ). As fêmeas de *D. citri* foram individualmente introduzidas no braço central do olfatômetro e observada por um tempo máximo de 5 min. A escolha do inseto foi considerada quando ultrapassava uma linha traçada na metade de um dos braços laterais e permaneciam nesta metade distal por mais de 10 segundos (Beloti et al., 2017; Fancelli et al., 2018). Insetos que não fizeram a escolha no tempo estipulado foram considerados como "não resposta".

Cada fêmea foi utilizada apenas uma vez e os braços do olfatômetro foram invertidos depois da avaliação dos insetos para detectar tendências de lado na escolha. Após 10 psilídeos, o olfatômetro foi lavado com detergente neutro, água e álcool 70% (Start, Lima & Pergher, São Paulo, SP, Brasil) e seco em estufa a 60°C, foram utilizados 7 de planta e 65 adultos.

#### 4.4. Bioensaios de túnel de vento

Para avaliar a resposta olfativa e visual de *D. citri*, foi desenvolvido um túnel de vento similar ao sistema de Alquézar et al. (2017). Este sistema consistiu em uma câmara retangular de plástico (polietileno) transparente (57,5 × 39,5 × 31,8 cm). Nas laterais distais, dois círculos opostos (8 cm diâmetro) foram perfurados a 18,5 cm da base. Um dos orifícios foi coberto com tecido voile e um ventilador (7,5x7,5x3,0 cm) foi encaixado. No orifício oposto, foi acoplado um copo plástico preto com fundo coberto por tecido *voile*, que permitiu a passagem do fluxo de ar. Um terceiro orifício de mesmo diâmetro foi perfurado no fundo da câmara para a introdução da parte aérea das tangerineiras ‘Ponkan’ e das plantas não hospedeiras (abacate, café ou maracujá). Para selar o círculo após a introdução das plantas, foi utilizada esponja à qual foi adicionado polietileno e com uma placa de madeira de 12x5 cm foi parafusada, na câmara plástica (Figura 2).

As mudas de abacate ou maracujá foram introduzidas no mesmo orifício, porém, posicionadas entre a tangerineira e o ventilador. Como as mudas de café eram menores, elas foram colocadas dentro da câmara em um copo de plástico coberto com papel alumínio, deixando exposto apenas a parte aérea da planta (Figura 3). Para eliminar o efeito visual das plantas não hospedeiras para os psilídeos, a parte exposta das mudas de café, maracujá e abacate foram ensacadas com tecido *voile* deixando visível apenas a muda de tangerina. O *voile* é um tecido de malha fina que permite a passagem de ar e, por isso, a dispersão dos voláteis das plantas. No tratamento controle, que consistiu na presença da planta de tangerina apenas e uma haste dentro de um copo de plástico coberto de voile, simulando a planta não hospedeira. O fluxo de ar gerado pelo ventilador, ligado por um potenciômetro, foi conduzido pela planta não hospedeira, a tangerineira, até chegar aos insetos no copo posicionado no lado oposto da câmara. A velocidade do vento foi ajustada em 0,5 m/s para os ensaios.

Foi testada a resposta de localização hospedeira por fêmeas de *D. citri* acasaladas com 7 a 17 dias de idade (Alquézar et al., 2017) e sem alimentação por 2 h antes dos testes. Um total de 20 fêmeas foram liberadas em cada câmara às 10:00 h e o número de insetos sobre

tangerineira ‘Ponkan’, no saco de *voile* cobrindo a planta não hospedeira, nas paredes da câmara ou dentro do copo de liberação, foram registrados a cada hora até às 16:00 h, quando o experimento foi finalizado (6 h de duração) (Figura 4).

O posicionamento dos insetos foi registrado simultaneamente em uma câmara contendo apenas tangerineira ‘Ponkan’ e outra contendo a tangerineira associada aos voláteis da planta não hospedeira. Assim, foram conduzidos os seguintes ensaios:

- (i) Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’+ Abacate;
- (ii) Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’ + Café;
- (iii) Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira "Ponkan" + Maracujá.

A avaliação das duas câmaras simultâneas foi considerada uma repetição e um total de 8 repetições foi conduzida para cada combinação. As condições da sala (temperatura, fotoperíodo e umidade relativa) onde foram realizados os ensaios de túnel de vento foram as mesmas descritas para o bioensaio de olfatométrica. O delineamento experimental utilizado foi blocos casualizados.

#### **4.5. Bioensaio de sobrevivência de *D. citri* em plantas hospedeiras e não hospedeiras.**

A sobrevivência do psilídeo-asiático-dos-citros em plantas não hospedeiras (abacate, café ou maracujá) foi comparada com aquela na planta hospedeira (tangerineira ‘Ponkan’) e sem hospedeiro, somente água, em condições de laboratório. Foram colocados 10 psilídeos (sem sexagem) com idade de 8-10 dias em cada planta. Os psilídeos foram retidos nas plantas de tangerina e abacate por uma câmara retangular plástica (24,5 cm x 15,0 cm) acoplada ao ápice das plantas e fechada (Figura a e b). Nas plantas de café e maracujá, os psilídeos foram mantidos dentro de um copo plástico (700 mL capacidade) acoplado ao ápice da planta (Figura 5 c, d e e). No tratamento sem hospedeiro, foi utilizado o mesmo copo de 700 mL com algodão água. Cada arena tinha uma abertura na lateral, onde os caules das plantas foram posicionados de modo que as folhas ficassem no interior da arena (Figura 5). Os caules foram envoltos por algodão para vedar as aberturas e evitar o escape dos psilídeos, dessa forma em cada arena havia um tratamento (café, maracujá, abacate e tangerineira).

Foi avaliado o número de insetos vivos a cada 24 h até 30 dias. O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizados (DIC) com 5 tratamentos e 5 repetições.

#### 4.6. Análise estatística

A resposta do psilídeo no bioensaio de olfatométrica foi analisada pelo Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM- *Generalized Linear Mixed Models*) com distribuição binomial, sendo o efeito fixo os tratamentos (a tangerineira ‘Ponkan’ e o ar limpo) e a variável aleatória as repetições. O teste log-likelihood ratio foi utilizado para comparar as fontes de odor. A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

Para avaliar o efeito da associação da tangerineira com os voláteis da planta não hospedeira na resposta olfativa do psilídeo-asiático-cítricos, foi usado o GLMM com distribuição poisson e binomial negativa (para explicar a sobredispersão) ou o Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição de erro quasi-poisson (para explicar a sobredispersão). A função de link logit foi aplicada para a variável número de insetos presentes em cada parte do sistema avaliado, sendo a variável fixa as combinações e a variável aleatória a repetição temporal. Os dados de mortalidade acumulada dos psilídeos no ensaio sem chance de escolha nas plantas hospedeiras, não hospedeiras e no tratamento sem hospedeiro foram analisadas pelo GLMM com distribuição binomial, sendo a variável fixa os hospedeiros e a variável aleatória o tempo.

O teste da razão de verossimilhança (log-likelihood ratio) foi utilizado para comparar o efeito dos tratamentos, seguida por comparações de Tukey ( $p < 0.05$ ). A qualidade do ajuste foi determinada através de um gráfico semi-normal com um envelope de simulação.

Para o cálculo dos tempos letais 50 (TL50) da mortalidade dos psilídeos nas plantas hospedeiras e não hospedeiras foi ajustado um modelo log-logístico com dois parâmetros  $y = 1/(1 + \exp\{b[\ln(x) - \ln(e)]\})$ . Para qualidade do ajuste, foi utilizado o teste “Goodness-of-fit”.

Todas as análises foram feitas utilizando-se o software R 3.6 (R Core Team, 2019) e foram utilizados os seguintes pacotes lme4 (Bates et al., 2015), emmeans (Searle et al., 1980), drc (Ritz et al., 2015) e hnp (Moral et al., 2017).



## 5. RESULTADOS

### 5.1. Bioensaios de olfatosmetria

As fêmeas de *D. citri* não diferenciaram entre os odores da tangerineira e o ar limpo (controle) (GLMM, teste da razão de verossimilhança;  $\chi^2 = 2.4762$ , d. f. = 1,  $p = 0.1156$ ; Figura 6). Como as fêmeas de *D. citri* não identificaram os odores da sua planta hospedeira nos ensaios de olfatosmetria, esse método não foi adequado para avaliar a resposta olfativa do psilídeo

### 5.2. Bioensaios de túnel de vento

A associação com os voláteis da planta de abacate atraiu um menor número de psilídeos para a tangerineira (planta hospedeira) em relação à tangerineira sozinha, ao longo do tempo (GLMM, teste da razão de verossimilhança;  $\chi^2 = 36.18$ , d. f. = 1,  $p < 0.001$ ; Figura 7a). Já a quantidade de insetos pousados na câmara foi maior no tratamento da tangerineira associada à planta de abacate do que na tangerineira sozinha ( $\chi^2 = 27.13$ , d. f. = 1,  $p < 0.001$ ; Figura 7b). No entanto, os números de psilídeos que permaneceram no copo ( $\chi^2 = 1.49$ , d. f. = 1,  $p = 0.22$ ; Figura 7c) ou pousados na gaiola de *voile* envolvendo a planta de abacate ou nenhuma planta (tratamento tangerineira sozinha) foram similares nos dois tratamentos ( $\chi^2 = 0.52$ , d. f. = 1,  $p = 0.471$ ; Figura 7d).

Por outro lado, a associação com os voláteis da planta de maracujá aumentou a atratividade da tangerineira em relação à planta de tangerineira sozinha ( $\chi^2 = 4.44$ , d. f. = 1,  $p = 0.0351$ ; Figura 8a). Os números de insetos pousados na câmara ou que permaneceram no copo de liberação foram similares nos dois tratamentos (câmara :  $\chi^2 = 1.42$ , d. f. = 1,  $p = 0.2324$ , Figura 8b, copo;  $\chi^2 = 2.75$ , d. f. = 1,  $p = 0.0967$ , Figura 8c). Em relação ao número de psilídeos pousados na gaiola de *voile* ao longo do tempo, houve interação do efeito tratamento e tempo ( $\chi^2 = 14.27$ , d. f. = 1,  $p < 0.001$ ), de modo que a quantidade de psilídeos no *voile* envolvendo a planta de maracujá foi superior na primeira ( $\chi^2 = 8.27$ , d. f. = 1,  $p = 0.0040$ ; Figura 8d) e segunda hora ( $\chi^2 = 4.68$ , d. f. = 1,  $p = 0.0303$ ) em relação ao controle (sem planta), porém não nos demais intervalos.

Diferentemente do efeito dos voláteis do abacate e maracujá, a associação aos voláteis do cafeeiro não afetou o número de psilídeos na tangerineira (GLMM, teste da razão de verossimilhança;  $\chi^2 = 0.16$ , d. f. = 1,  $p = 0.6914$ ; Figura 9a). Não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação ao número de insetos na câmara ( $\chi^2 = 0.59$ , d. f. = 1,  $p = 0.4413$ ; Figura 9b), copo ( $\chi^2 = 1.22$ , d. f. = 1,  $p = 0.2693$ ; Figura 9c) ou gaiola *voile* ( $\chi^2 = 2.00$ , d. f. = 1,  $p = 0.157$ ; Figura 9d).

### **5.3. Bioensaio de sobrevivência de *D. citri* em plantas hospedeiras e não hospedeiras.**

A mortalidade acumulada, ao longo de 30 dias, do psilídeo na tangerineira foi menor do que em todas as plantas não hospedeiras (GLMM, efeito tratamento, teste da razão de verossimilhança;  $\chi^2 = 82.00$ , d. f. = 4,  $p < 0.001$ ; Figura 10). Entre as plantas não hospedeiras, a mortalidade do psilídeo foi maior nas plantas de maracujá e abacate, seguido do abacate. Todos os tratamentos com as plantas tiveram mortalidade do psilídeo menor que no tratamento em que recebeu apenas água (Tukey  $p < 0.05$ ). Em relação ao tempo letal 50 (TL50) a tangerineira foi a melhor hospedeira ( $19.43 \pm 0.27$ ), depois o café ( $5.59 \pm 0.18$ ), maracujá ( $4.71 \pm 0.16$ ), abacate ( $4.03 \pm 0.16$ ) e o tratamento com apenas água ( $2.35 \pm 0.13$ ), (log-logístico; Goodness-of-fit test;  $\chi^2 = 342.9$ , d. f. = 335,  $p = 0.3712$ ; figura 10).

Para compreender melhor o efeito dos hospedeiros na mortalidade acumulada de *D. citri* no tempo foi analisado o período entre os dias 1 e 7, já que a partir deste período não há mudança nos tratamentos. No dia 1, não houve diferença entre os hospedeiros e não hospedeiros (Tabela 1), mas, no dia 2, a mortalidade dos insetos sem alimento foi maior que nos demais tratamentos (Tukey,  $p < 0.05$ ). A partir do dia 4, a mortalidade na planta de abacate foi mais acentuada do que no café e maracujá, mas todas as plantas não hospedeira se diferenciaram da tangerineira (menor mortalidade) e do tratamento com apenas água (maior mortalidade) (Tukey,  $p < 0.05$  Tabela 1).

## 6. DISCUSSÃO

Sabe-se que o psilídeo-asiático-dos-citros *D. citri* explora pistas olfativas e visuais nas primeiras etapas de escolha hospedeira (Wenninger et al., 2009; Patt and Sétamou, 2010; Rajinder S. Mann et al., 2012; Robbins et al., 2012). Após a chegada na planta, aspectos físicos, como a dureza da folha, nutricionais e outros metabólitos secundários desempenham papel importante na aceitação da planta hospedeira para alimentação ou oviposição (Yang et al., 2013; Cifuentes-Arenas et al., 2018). O nosso estudo avaliou se a combinação da planta hospedeira, a tangerineira ‘Ponkan’, com plantas não hospedeiras (abacate, café e maracujá) comumente plantadas no estado de MG, próximas ou em consórcio com os pomares, pode facilitar ou dificultar a colonização pelo psilídeo vetor do HLB. Verificamos, primeiramente, se os voláteis da planta não hospedeira em combinação com a planta hospedeira alteraria a localização hospedeira. Em seguida, testamos se as plantas hospedeiras poderiam servir de abrigo temporário, o que facilitaria a migração do psilídeo para os pomares de tangerina.

Diversos estudos usaram o olfatômetro em ‘Y’ para avaliar a resposta olfativa do psilídeo *D. citri* aos voláteis das plantas (R. S. Mann et al., 2012; Beloti et al., 2017; Fancelli et al., 2018). No nosso sistema de olfatometria, o método mostrou-se inadequado porque as fêmeas testadas não discriminaram entre os odores da planta hospedeira e o ar limpo. Além disso, o método de túnel de vento adaptado de Alquézar et al., (2017) nos forneceu mais informações sobre o comportamento do psilídeo frente a planta hospedeira, como será discutido a seguir.

Entre as três plantas não hospedeiras testadas, a associação com a planta de abacate foi a única que prejudicou a localização da tangerineira pelo psilídeo, já que um menor número de insetos estavam sobre a planta hospedeira ao longo do tempo do experimento, atingindo um número 30% menor na última hora de avaliação. Quando os voláteis da planta de abacate estavam associados à tangerineira, um maior número de psilídeos permaneceu nas paredes da câmara, enquanto que a quantidade de insetos no copo de liberação ou no *voile* que cobria a planta de abacate não diferiu do tratamento com a tangerineira sozinha. Esses dados suportam a hipótese que os voláteis da planta de abacate não são repelentes, mas provavelmente mascaram os odores da planta hospedeira para o inseto. Se o abacate liberasse voláteis repelentes, esperávamos um menor número de insetos sobre o saco de *voile* e um maior número dentro do copo de liberação em relação ao tratamento da tangerineira sozinha.

Há estudos sobre a composição de voláteis emitidos pelas plantas de abacate que mostram que a planta emite o sesquiterpeno (*E*)- $\beta$ -caryophyllene (Bravo-Monzon and Espinosa-Garcia, 2008; Niogret et al., 2013b, 2013a) que, dependendo da concentração, é repelente para *D citri* (Alquézar et al., 2017). Esse terpeno é o responsável pela repelência da planta de goiaba ao psilídeo (Wenninger et al., 2009; Zaka et al., 2010). Os nossos dados não indicam repelência, mas mascaramento. Vale determinar se esse efeito dos voláteis da planta de abacate associados à tangerineira é devido ao (*E*)- $\beta$ -caryophyllene ou outro(s) composto(s).

Por outro lado, os voláteis da planta de maracujá facilitaram a localização da tangerineira. Ao final da avaliação, a planta de tangerina associada aos voláteis da planta de maracujá continha, em média, 18% mais insetos do que no tratamento somente com a tangerineira. Além do maior número de insetos na tangerineira associada aos voláteis da planta de maracujá, foram encontrados 2 vezes mais psilídeos sobre o tecido *voile* cobrindo a planta de maracujá nas primeiras duas horas em relação ao *voile* sem planta. Essa maior atração à planta hospedeira pode ter sido resultante de um efeito quantitativo (maior biomassa vegetal na câmara) ou qualitativo da emissão de voláteis da planta de maracujá. Em razão da aparente atratividade dos voláteis do maracujá ao psilídeo, foi conduzido um ensaio adicional comparando a localização pelos psilídeos da planta de maracujá e a tangerineira isoladamente. Nas primeiras 3 h, a quantidade de insetos na planta de maracujá foi igual ao de tangerina (Figura 11). Entretanto, posteriormente, o número de psilídeos na tangerineira foi superior ao da planta de maracujá. Apesar do número de insetos sobre a planta de maracujá ter permanecido constante até o final da avaliação, observamos uma alta movimentação dos psilídeos da planta para as paredes da câmara, e vice-versa. Considerando esses dados juntamente com o maior número de insetos pousados no *voile* de cobertura da planta de maracujá, essa planta não hospedeira provavelmente exerce uma atração ao psilídeo somente nas primeiras etapas da seleção hospedeira. Após a chegada na planta, o psilídeo detecta pistas gustativas e químicos não voláteis que o faz abandonar a planta.

Os voláteis do café, por sua vez, não influenciaram a localização hospedeira do psilídeo. O padrão de movimentação do psilídeo, examinado pelo número de insetos nas diferentes áreas do túnel de vento, foi similar nos tratamentos da tangerineira, com e sem associação com os voláteis da muda de café. Apesar desse efeito neutro sobre a localização hospedeira, o psilídeo sobreviveu na planta de café por mais tempo que as demais plantas não hospedeiras e duas vezes mais que o tratamento no qual foi fornecido apenas água. Assim, apesar da planta de café

não ser um hospedeiro adequado, *D. citri* deve se alimentar da seiva da planta de café, obtendo algum conteúdo energético para prolongar a sua longevidade.

Já as plantas de abacate e maracujá forneceram um recurso alimentar mais pobre e/ou possuem folhas que são mais difíceis para o psilídeo inserir o estilete em relação à planta de café. Embora o abacate e o maracujá proporcionem uma sobrevivência menor do psilídeo, essas plantas ainda forneceram uma sobrevivência 1,7 vezes maior ao tratamento em que receberam apenas água. Assim, esses resultados indicam que, se os psilídeos pousarem nas plantas não hospedeiras, eles podem abrigo e alimento temporariamente, auxiliando na dispersão de *D. citri* para tangerineiras nas proximidades. Outros estudos também indicam que plantas não hospedeiras, como plantas espontâneas (Johnston et al., 2019), ou cultivos de tomate e algodão próximos de pomares de tangerineiras, podem ter esse papel de abrigo e alimento temporário para o psilídeo (plantas hospedeiras secundárias) (Hall et al., 2009; George et al., 2020).

As interações entre *D. citri* e suas plantas hospedeiras e não hospedeiras são importantes para entender como as plantas não hospedeiras podem influenciar na atração e colonização do psilídeo nos pomares de tangerineira ‘Ponkan’. Sob a perspectiva do manejo do psilídeo, os nossos resultados indicam que o cultivo de plantas de *P. edulis* aumentou a atratividade de mudas da tangerina para o psilídeo, no entanto, é uma planta que não fornece abrigo e alimento por muito tempo para *D. citri*. Enquanto o café, um cultivo predominante no estado de MG, não alterou a seleção hospedeira, porém os dados de sobrevivência no café são interessantes, porque em pomares próximos a campos cultivados com café, eles podem ajudar na dispersão do inseto ou, quando ele apresenta condições adversas, pode se refugiar nas plantações de café. Já a associação com abacate na proximidade ou em consórcio com pomares de tangerina são positivas porque o abacate além de reduzir a quantidade de insetos quando associado com a tangerineira, também permitiu o menor tempo de sobrevivência para o psilídeo. Portanto, pesquisas futuras podem ser realizadas para caracterizar a mistura de voláteis da variedade de planta de abacate usada no estudo, assim como da planta de maracujá e café, que são pouco conhecidas. A comparação entre os perfis de voláteis e o efeito sobre o psilídeo pode permitir a seleção de compostos potencialmente repelentes, ou que interfiram negativamente na localização da planta hospedeira pelo inseto.

## **7. AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Além disso, contou com o apoio e estrutura da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG/EcoCentro, Lavras) e do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras, UFLA.

## 8. REFERENCIAS

- Alquézar B, Volpe HXL, Magnani RF, de Miranda MP, Santos MA, Wulff NA, Bento JMS, Parra JRP, Bouwmeester H, Peña L, 2017.  $\beta$ -caryophyllene emitted from a transgenic Arabidopsis or chemical dispenser repels *Diaphorina citri*, vector of *Candidatus Liberibacter*. Sci. Rep. 7, 5639.
- Ammar E-D, Ramos JE, Hall DG, Dawson WO, Shatters RG, 2016. Acquisition, Replication and Inoculation of *Candidatus Liberibacter asiaticus* following Various Acquisition Periods on Huanglongbing-Infected Citrus by Nymphs and Adults of the Asian Citrus Psyllid. PLoS One 11, e0159594.
- Ausique JJS, 2014. Desenvolvimento de estratégias para incorporação de fungos entomopatogênicos no manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) na cultura dos citros. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Barman JC, Campbell SA, Zeng X, 2016. Exposure to Guava Affects Citrus Olfactory Cues and Attractiveness to *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Environ. Entomol. 45, 694–699.
- Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S, 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. J. Stat. Softw. 67, w.
- Beloti VH, Alves GR, Coletta-Filho HD, Yamamoto PT, 2018. The Asian Citrus Psyllid Host *Murraya koenigii* Is Immune to Citrus Huanglongbing Pathogen ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’. Phytopathology 108, 1089–1094.
- Beloti VH, Santos F, Alves GR, Bento JMS, Yamamoto PT, 2017. Curry leaf smells better than citrus to females of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Arthropod. Plant. Interact. 11, 709–716.
- Bravo-Monzon AE, Espinosa-Garcia FJ, 2008. Volatile emissions in *Persea americana* in response to the stem borer *Copturus aguacatae* attack. Allelopath. J. 21, 165.
- Chen H-C, Sheu M-J, Lin L-Y, Wu C-M, 2007. Chemical Composition of the Leaf Essential Oil of *Psidium guajava* L. from Taiwan. J. Essent. Oil Res. 19, 345–347.
- Cifuentes-Arenas JC, de Goes A, de Miranda MP, Beattie GAC, Lopes SA, 2018. Citrus flush shoot ontogeny modulates biotic potential of *Diaphorina citri*. PLoS One 13, e0190563.
- Conceschi MR, 2017. Parâmetros a serem considerados nas pulverizações do fungo *Isaria fumosorosea* para o manejo de *Diaphorina citri*. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Cook SM, Khan ZR, Pickett JA, 2007. The Use of Push-Pull Strategies in Integrated Pest Management. Annu. Rev. Entomol. 52, 375–400.
- Diniz AJF, 2013. Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estab. Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- Fancelli M, Borges M, Laumann RA, Pickett JA, Birkett MA, Blassioli-Moraes MC, 2018.

- Attractiveness of Host Plant Volatile Extracts to the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri*, is Reduced by Terpenoids from the Non-Host Cashew. *J. Chem. Ecol.* 44, 397–405.
- Fundecitrus, 2018. Levantamento de doenças dos citros: HLB, CVC e Cancro cítrico/ Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara, SP.
- Fundecitrus, 2019. Resultado do manejo externo. *Citricultor* 12–15.
- George J, Kanissery R, Ammar E-D, Cabral I, Markle LT, Patt JM, Stelinski LL, 2020. Feeding Behavior of Asian Citrus Psyllid [*Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)] Nymphs and Adults on Common Weeds Occurring in Cultivated Citrus Described Using Electrical Penetration Graph Recordings. *Insects* 11, 48.
- Gottwald TR, 2010. Current Epidemiological Understanding of Citrus Huanglongbing. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48, 119–139.
- Grafton-Cardwell EE, Stelinski LL, Stansly PA, 2013. Biology and Management of Asian Citrus Psyllid, Vector of the Huanglongbing Pathogens. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 413–432.
- Halbert SE, Manjunath KL, 2009. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in florida. [http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0330:ACPSPA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0330:ACPSPA]2.0.CO;2).
- Hall DG, Gottwald TR, Nguyen NC, Ichinose K, Le QD, Beattie GA, Stover E, 2009. Greenhouse investigations on the effect of guava on infestations of Asian citrus psyllid in grapefruit, in: *Proceedings of the Annual Meeting of the Florida State Horticultural Society.* 104–109.
- Hall DG, Lapointe SL, Wenninger EJ, 2007. Effects of a Particle Film on Biology and Behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and Its Infestations in Citrus. *J. Econ. Entomol.* 100, 847–854.
- Hall DG, Richardson ML, Ammar E-D, Halbert SE, 2013. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. *Entomol. Exp. Appl.* 146, 207–223.
- Hoy MA, Singh R, Rogers ME, 2010. Evaluations of a Novel Isolate of *Isaria fumosorosea* for Control of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomol.* 93, 24–32.
- Ichinose K, Hoa N V., Bang D V., Tuan DH, Dien LQ, 2012. Limited efficacy of guava interplanting on citrus greening disease: Effectiveness of protection against disease invasion breaks down after one year. *Crop Prot.* 34, 119–126.
- Johnston N, Stansly PA, Stelinski LL, 2019. Secondary hosts of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama: Survivorship and preference. *J. Appl. Entomol.* 143, 921–928.
- Magnani RF, 2017. Volatile repellents emitted by plants as a sustainable strategy to manage and control *Diaphorina citri*, insect vector of the citrus disease HLB ('greening'), in: *X Encontro Brasileiro de Ecologia Química.* Federal University of São Carlos, São Paulo, Brasil, 15.
- Mann Rajinder S., Ali JG, Hermann SL, Tiwari S, Pelz-Stelinski KS, Alborn HT, Stelinski LL, 2012. Induced Release of a Plant-Defense Volatile 'Deceptively' Attracts Insect Vectors to Plants Infected with a Bacterial Pathogen. *PLoS Pathog.* 8, e1002610.
- Mann R. S., Tiwari S, Smoot JM, Rouseff RL, Stelinski LL, 2012. Repellency and toxicity of plant-



- based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *J. Appl. Entomol.* 136, 87–96.
- Moral RA, Hinde J, Demétrio CGB, 2017. Half-Normal Plots and Overdispersed Models in R : The hnp Package. *J. Stat. Softw.* 81.
- Nava DE, Torres MLG, Rodrigues MDL, Bento JMS, Parra JRP, 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *J. Appl. Entomol.* 131, 709–715.
- Niogret J, Epsky ND, Schnell EQ, Schnell RJ, Heath RR, Meerow AW, Kendra PE, 2013a. Analysis of Sesquiterpene Distributions in the Leaves, Branches, and Trunks of Avocado (*Persea americana* Mill.). *Am. J. Plant Sci.* 04, 922–931.
- Niogret J, Epsky ND, Schnell RJ, Boza EJ, Kendra PE, Heath RR, 2013b. Terpenoid Variations within and among Half-Sibling Avocado Trees, *Persea americana* Mill. (Lauraceae). *PLoS One* 8, e73601.
- Ogunwande IA, Olawore NO, Adeleke KA, Ekundayo O, Koenig WA, 2003. Chemical composition of the leaf volatile oil of *Psidium guajava* L. growing in Nigeria. *Flavour Fragr. J.* 18, 136–138.
- Onagbola EO, Rouseff RL, Smoot JM, Stelinski LL, 2011. Guava leaf volatiles and dimethyl disulphide inhibit response of *Diaphorina citri* Kuwayama to host plant volatiles. *J. Appl. Entomol.* 135, 404–414.
- Orduño-Cruz N, Guzmán-Franco AW, Rodríguez-Leyva E, Alatorre-Rosas R, González-Hernández H, Mora-Aguilera G, 2015. In vivo selection of entomopathogenic fungal isolates for control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Biol. Control* 90, 1–5.
- Parra JRP, Alves GR, Diniz AJF, Vieira JM, 2016. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): Mass Rearing and Potential Use of the Parasitoid in Brazil. *J. Integr. Pest Manag.* 7, 5.
- Patt JM, Robbins PS, Niedz R, McCollum G, Alessandro R, 2018. Exogenous application of the plant signalers methyl jasmonate and salicylic acid induces changes in volatile emissions from citrus foliage and influences the aggregation behavior of Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*), vector of Huanglongbing. *PLoS One* 13, e0193724.
- Patt JM, Sétamou M, 2010. Responses of the Asian Citrus Psyllid to Volatiles Emitted by the Flushing Shoots of Its Rutaceous Host Plants. *Environ. Entomol.* 39, 618–624.
- R Core Team, 2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing.
- Ritz C, Baty F, Streibig JC, Gerhard D, 2015. Dose-Response Analysis Using R. *PLoS One* 10, e0146021.
- Robbins PS, Alessandro RT, Stelinski LL, Lapointe SL, 2012. Volatile Profiles of Young Leaves of Rutaceae spp. Varying In Susceptibility to the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomol.* 95, 774–776.
- Ruan C-Q, Hall DG, Liu B, Duan Y-P, Li T, Hu H-Q, Fan G-C, 2015. Host-Choice Behavior of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) Under Laboratory Conditions. *J. Insect Behav.* 28, 138–146.

- Schröder R, Hilker M, 2008. The Relevance of Background Odor in Resource Location by Insects: A Behavioral Approach. *Bioscience* 58, 308–316.
- Searle SR, Speed FM, Milliken GA, 1980. Population Marginal Means in the Linear Model: An Alternative to Least Squares Means. *Am. Stat.* 34, 216–221.
- Silva JAA, Hall DG, Gottwald TR, Andrade MS, Maldonado W, Alessandro RT, Lapointe SL, Andrade EC, Machado MA, 2016. Repellency of selected *Psidium guajava* cultivars to the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Crop Prot.* 84, 14–20.
- Thiery D, Visser JH, 1986. Masking of host plant odour in the olfactory orientation of the Colorado potato beetle. *Entomol. Exp. Appl.* 41, 165–172.
- Thiery D, Visser JH, 1987. Misleading the Colorado potato beetle with an odor blend. *J. Chem. Ecol.* 13, 1139–1146.
- Togni PHB, Laumann RA, Medeiros MA, Sujii ER, 2010. Odour masking of tomato volatiles by coriander volatiles in host plant selection of *Bemisia tabaci* biotype B. *Entomol. Exp. Appl.* 136, 164–173.
- Wenninger EJ, Hall DG, 2008. Importance of multiple mating to female reproductive output in *Diaphorina citri*. *Physiol. Entomol.* 33, 316–321.
- Wenninger EJ, Hall DG, 2009. Daily Timing of Mating and Age at Reproductive Maturity in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). [http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040\(2007\)90\[715:DTOMAA\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1653/0015-4040(2007)90[715:DTOMAA]2.0.CO;2).
- Wenninger EJ, Stelinski LL, Hall DG, 2009. Roles of Olfactory Cues, Visual Cues, and Mating Status in Orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to Four Different Host Plants. *Environ. Entomol.* 38, 225–234.
- Yan H, Zeng J, Zhong G, 2015. The push-pull strategy for citrus psyllid control. *Pest Manag. Sci.* 71, 893–896.
- Yang Y, Beattie GAC, Spooner-Hart RN, Huang M, Barchia I, Holford P, 2013. Influences of leaf age and type, non-host volatiles, and mineral oil deposits on the incidence, distribution, and form of stylet tracks of *Diaphorina citri*. *Entomol. Exp. Appl.* 147, 33–49.
- Zaka SM, Zeng X-N, Holford P, Beattie GAC, 2010. Repellent effect of guava leaf volatiles on settlement of adults of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. *Insect Sci.* 17, 39–45.

## 9. MATERIAL SUPLEMENTAR

Anexo 1. Análise de diagnóstico do Greening em mudas utilizadas na presente pesquisa (teste qPCR) que demonstra que as plantas estavam sem a doença.



**FUNDECITRUS – FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA**

LABORATÓRIO DE PESQUISA E DIAGNÓSTICO

Lista de Amostras - NÃO VALE COMO LAUDO

Data: 14/11/2019

Propriedade: CAMPUS UFLA  
 Cidade: LAVRAS - MG  
 Produtor: ESTER ALICE FERREIRA

<u>Data de Envio</u>	<u>Amostra Lab</u>	<u>Descrição</u>	<u>Resultado</u>
08/11/2019	100571	PLANTA 01	SEM GREENING
08/11/2019	100572	PLANTA 02	SEM GREENING
08/11/2019	100573	PLANTA 03	SEM GREENING
08/11/2019	100574	PLANTA 04	SEM GREENING
08/11/2019	100575	PLANTA 05	SEM GREENING
08/11/2019	100576	PLANTA 06	SEM GREENING
08/11/2019	100577	PLANTA 07	SEM GREENING
08/11/2019	100578	PLANTA 08	SEM GREENING
08/11/2019	100579	PLANTA 09	SEM GREENING
08/11/2019	100580	PLANTA 10	SEM GREENING
08/11/2019	100581	PLANTA 11	SEM GREENING
08/11/2019	100582	PLANTA 12	SEM GREENING
08/11/2019	100583	PLANTA 13	SEM GREENING

**Quantidade: 13**

1. A positividade no teste de diagnóstico (qPCR) depende do limite de sensibilidade, ou seja, da quantidade mínima de bactérias detectáveis por amostra.

FUNDECITRUS – FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA - LABORATÓRIO DE PESQUISA E DIAGNÓSTICO  
 AV. DR. ADHEMAR PEREIRA DE BARROS, 201 - VILA MELHADO CEP: 14807-040 - ARARAQUARA  
 TELEFONE: (16) 3301-7055

1 de 1



Figura 1 Criação do psílídeo *D. citri* em laboratório sob condições controladas

Laboratório de Entomologia/Acarologia da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais-EPAMIG/ Sul de Minas.

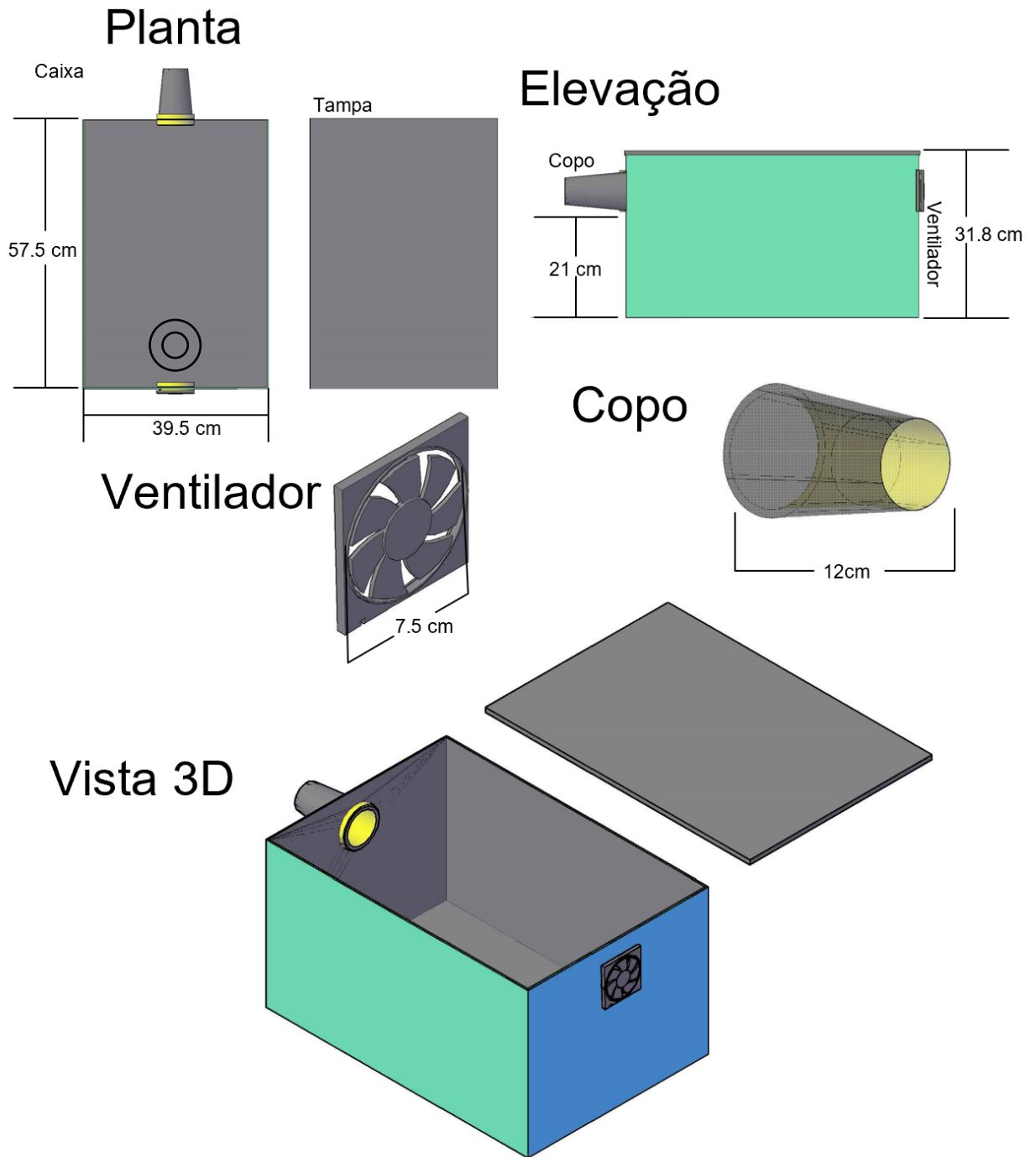


Figura 2 Dimensões da câmara plástica utilizada na avaliação de resposta estímulos olfativos e visuais de planta hospedeira na combinação de plantas não hospedeiras.

O sistema consiste em uma câmara de plástico. Nas laterais de 31.8 cm de comprimento, dois círculos opostos com 8 cm de diâmetro foram perfurados a 21 cm da base. No primeiro círculo, um tecido “voile” foi colocado, e depois o ventilador da unidade central de processamento (CPU) conectado a um potenciômetro. Entre o tecido e o ventilador foi colocado uma esponja com um círculo do mesmo diâmetro para selar os espaços. Parafusos foram usados para fixá-lo à câmara. No buraco oposto foi colocado um copo de plástico preto com fundo desmontável, onde os insetos foram liberados. Um terceiro círculo de mesmo diâmetro foi perfurado na parte inferior da câmara para a introdução das tangerineiras ‘Ponkan’ e plantas não hospedeiras.

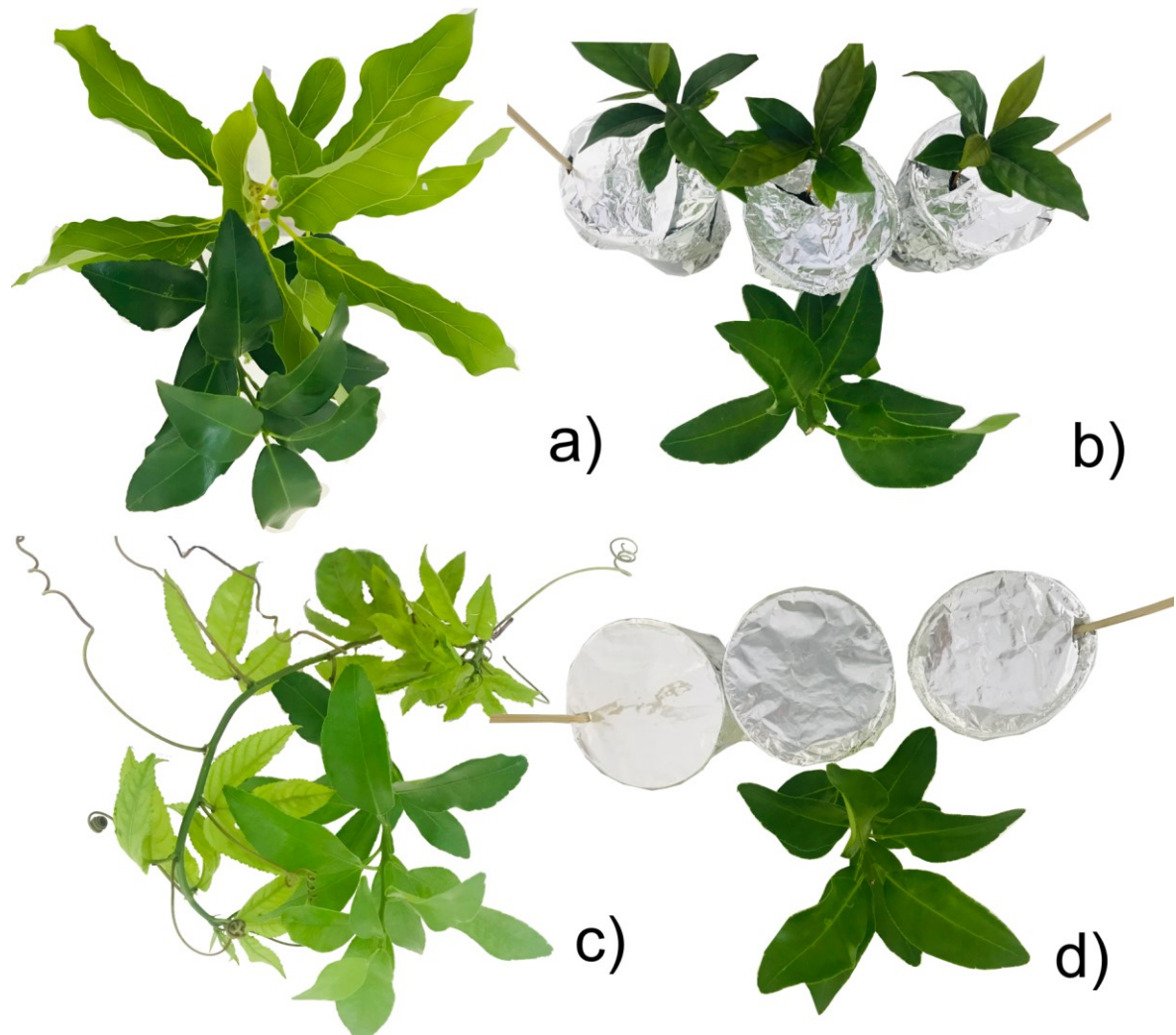


Figura 3 Combinações para avaliar o efeito da associação da tangerineira e plantas não hospedeiras na resposta olfativa e visual de *D. citri*. (a) Tangerineira 'Ponkan'+ Abacate; (b) Tangerineira 'Ponkan' + Café; (c) Tangerineira "Ponkan" + Maracujá; (d) Tangerineira 'Ponkan' sozinha.

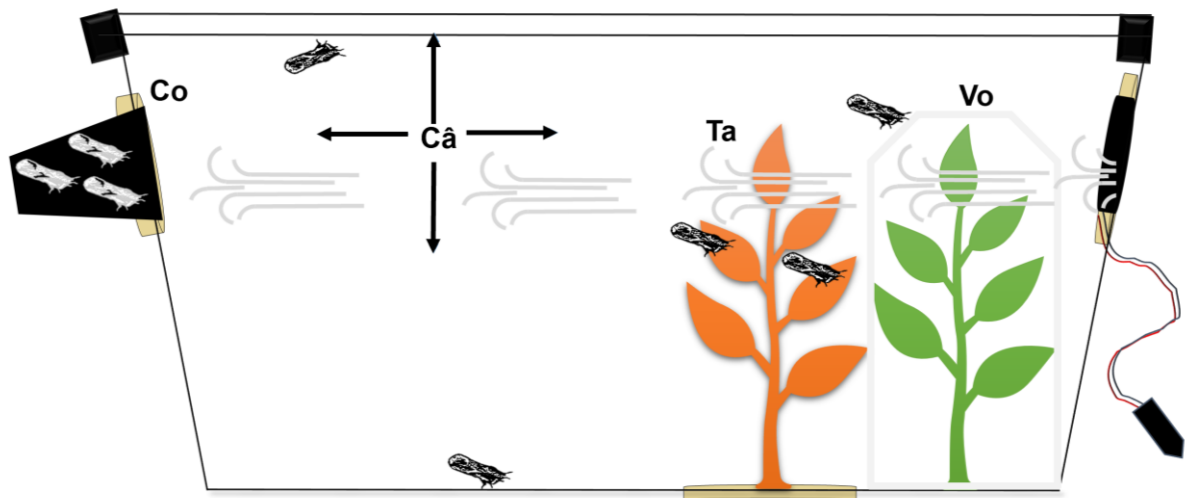


Figura 4 Sistema de avaliação de estímulos olfativos e visuais de planta hospedeira na combinação de plantas não hospedeiras. Câmara plástica onde foi avaliado o número de insetos presentes na planta de tangerineira, câmara, copo e voile. Co=copo, Câ=câmara, Ta=Tangerineira, Vo=voile.

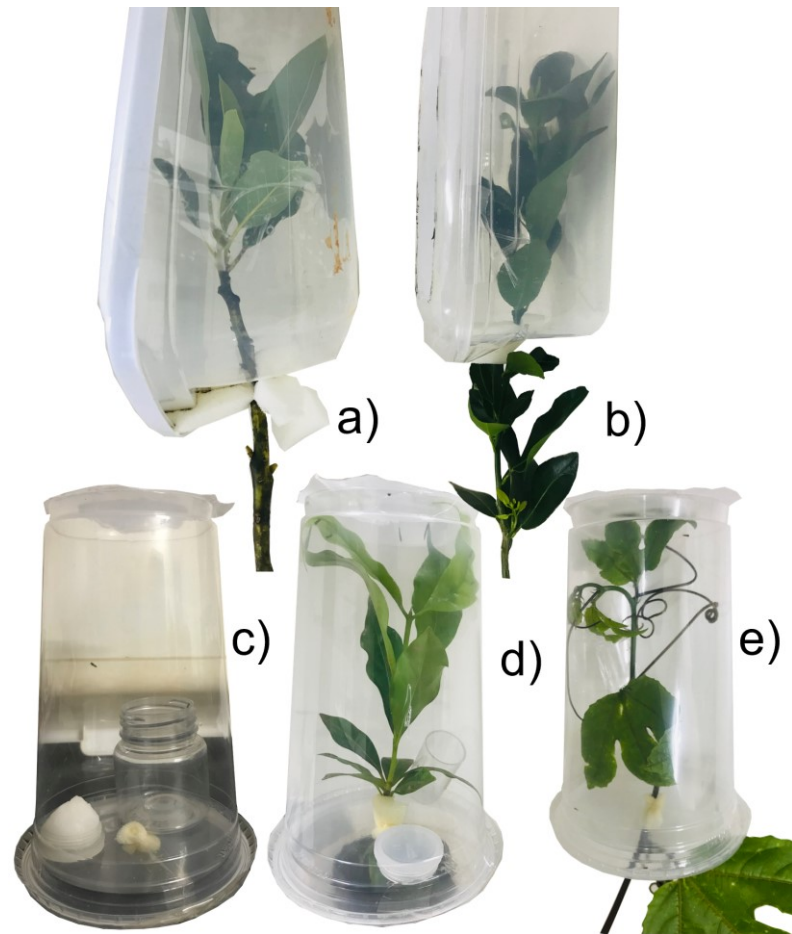


Figura 5 Ensaio de sobrevivência de *D. citri*. foi conduzido em laboratório. Foram colocadas em arenas retangulares e cilíndricas de plástico contendo em seu interior plantas hospedeiras, não hospedeiras e apenas água.



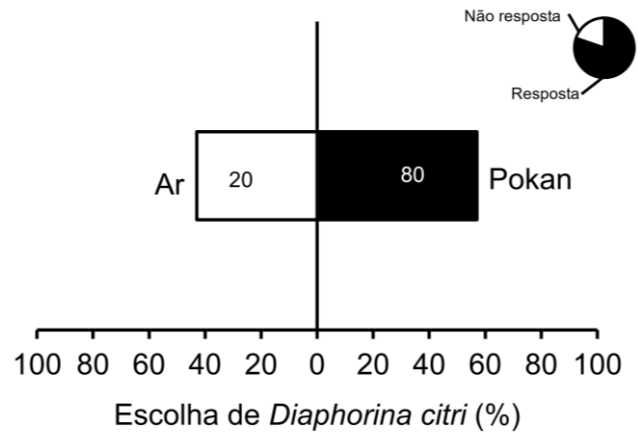


Figura 6 Teste de preferência olfativa de *D. citri* frente aos voláteis da Tangerineira 'Ponkan' e o Ar limpo, (GLMM, teste da razão de verossimilhança;  $\chi^2 = 2.4762$ , d. f. = 1,  $p = 0.1156$ ).

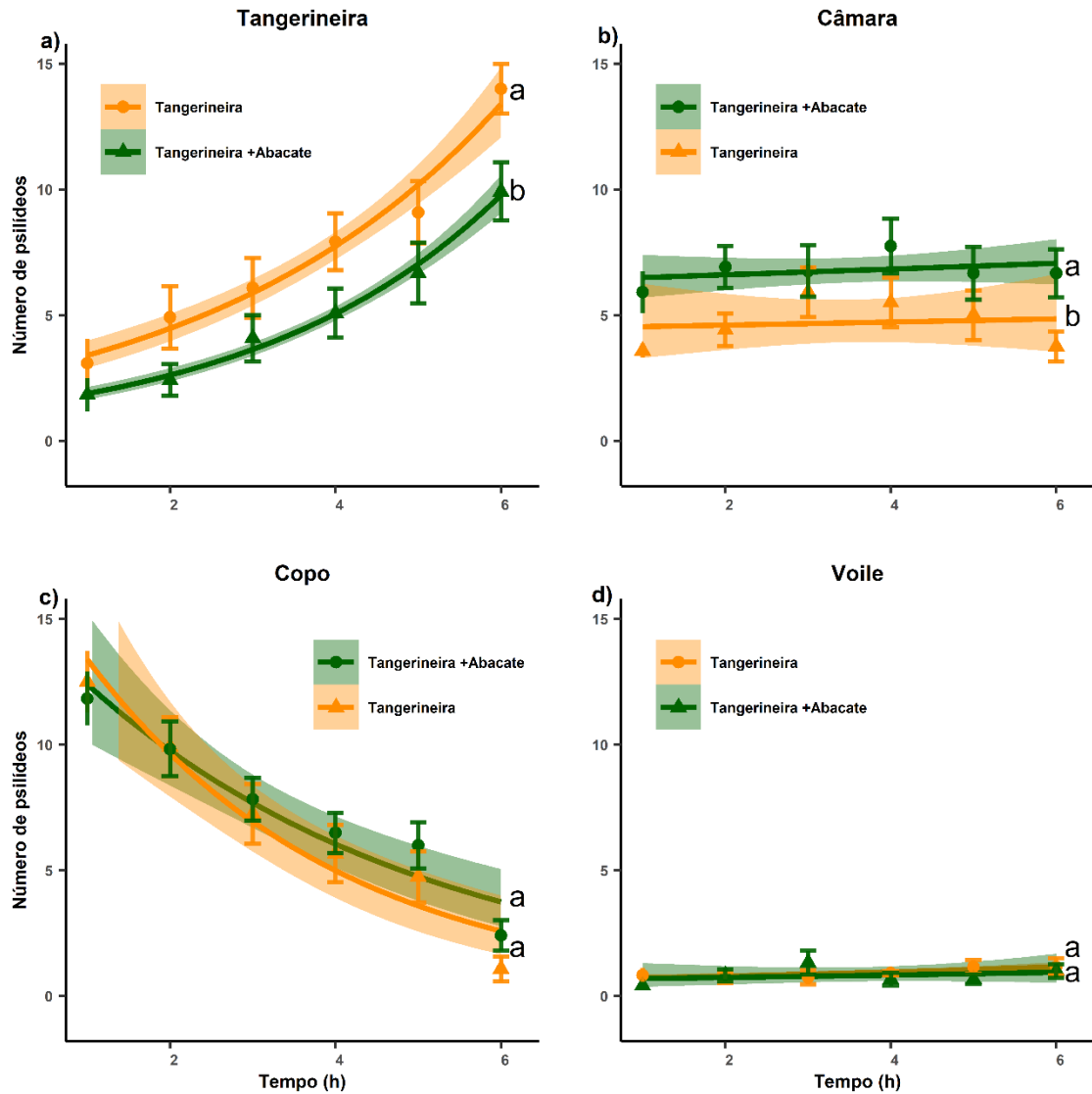


Figura 7 Número de *D. citri* nos parâmetros (a) Planta de Tangerineira (b) Câmara (c) Copo y (d) Voile, avaliado na combinação Tangerineira 'Ponkan' vs. Tangerineira 'Ponkan'+ Abacate.

Número de insetos observados nos parâmetros avaliados. a) Menor número de psilídeos no tangerineira com a presença do abacate; b) Maior número de psilídeos espalhados na câmara na presença de planta de abacate; c) A presença do abacate não interfere com a saída dos insetos do copo; d) A quantidade de insetos observados no voile sem abacate foi igual ao voile com abacate (GLMM, teste da razão de verossimilhança). Mesma letra não tem diferença significativa, teste de Tukey ( $p=0.05$ ).

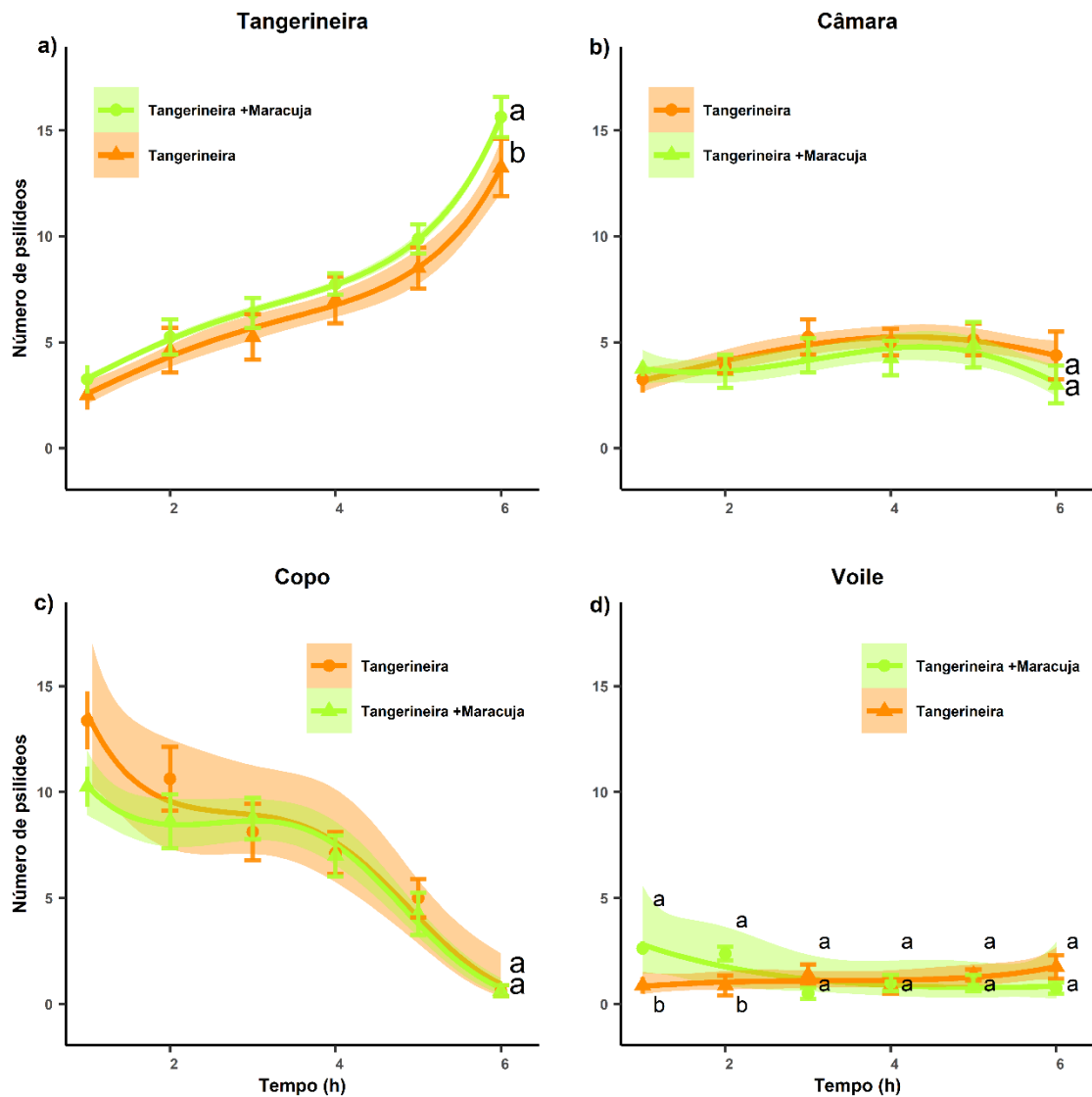


Figura 8 Número de *D. citri* nos seguintes parâmetros (a) Planta de tangerineira (b) Câmara (c) Copo e (d) Voile, avaliado na combinação Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’+ Maracujá.

Número de insetos observados nos parâmetros avaliados. a) Há um aumento do número de psilídeos na tangerineira com a presença do maracujá; b) Não há diferença da quantidade de psilídeos na câmara com a presença do maracujá; c) A presença do maracujá não interfere com a saída dos insetos do copo; d) A quantidade de insetos observados nas horas 1 e 2 foi maior na voile com maracujá em comparação com a voile sem maracujá, porém, a partir da terceira hora não houve diferença no número de *D. citri*. (GLMM, GLM; teste da razão de verossimilhança). Mesma letra não tem diferença significativa, teste de Tukey ( $p=0.05$ ).

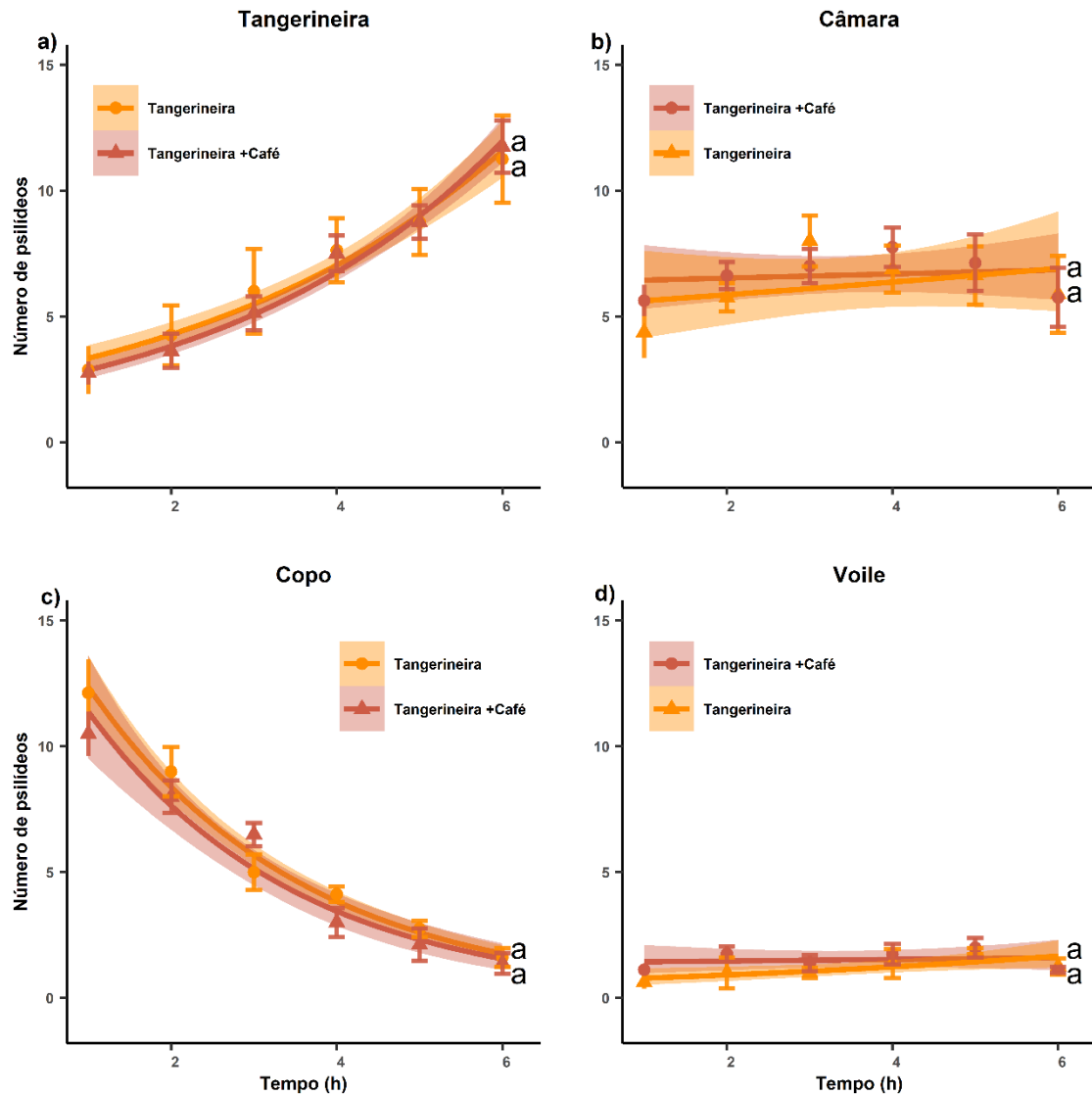


Figura 9 Número de *D. citri* nos seguintes parâmetros (a) Planta de tangerineira (b) Câmara (c) Copo e (d) Voile, avaliado na combinação Tangerineira ‘Ponkan’ vs. Tangerineira ‘Ponkan’+ Café.

Número de insetos observados nos parâmetros avaliados. a) Não há diferença do número de psilídeos na tangerineira com a presença do café; b) A quantidade dos psilídeos na câmara não foi modificada com a presença do café; c) A planta de café em associação com a tangerina não afetou a saída dos insetos do copo; d) A quantidade de insetos observados no *voile* sem café foi igual ao *voile* com tangerineira (GLMM, teste da razão de verossimilhança). Mesma letra não tem diferença significativa, teste de Tukey ( $p=0.05$ ).

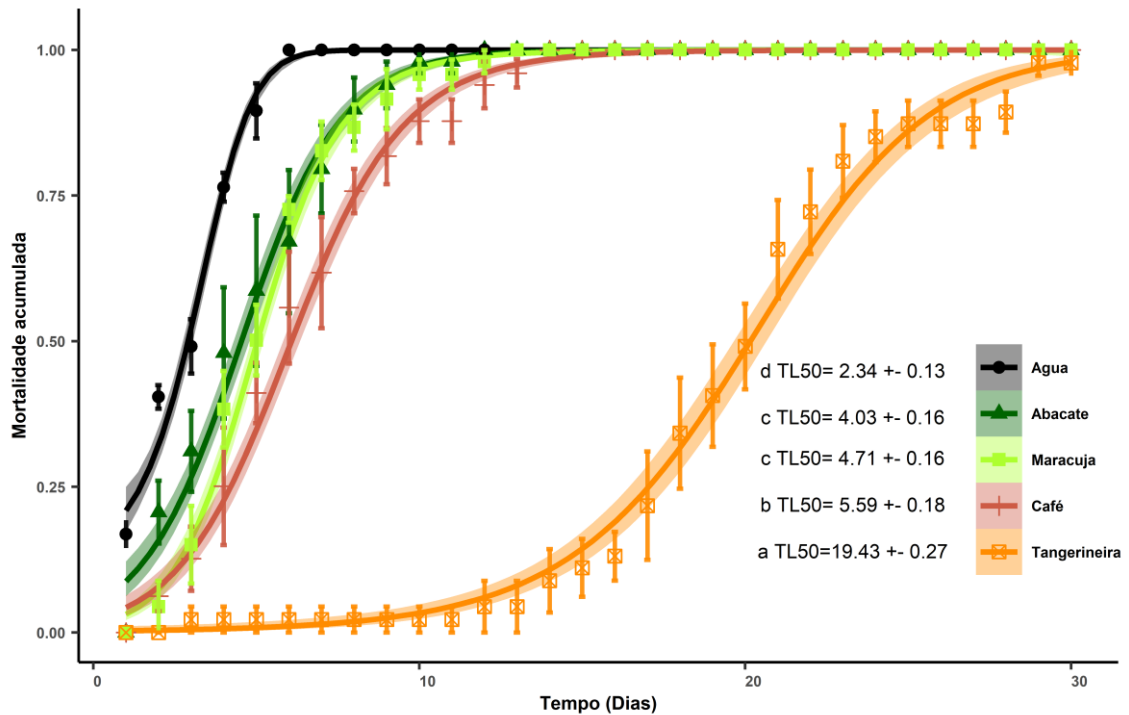


Figura 10 Mortalidade acumulada de *D. citri* avaliada na tangerineira e plantas não hospedeiras (Abacate, maracujá e café) e sem alimento fornecido somente água.

Mortalidade acumulada média ( $\pm$  se) de *D. citri* foi registrado até 30 dias, avaliado na tangerineira 'Ponkan', café, maracujá, abacate e sem hospedeiro, sendo que a mortalidade dos insetos sem hospedeiros foi maior seguido pelo abacate e maracujá que foram iguais, depois o café e por último a tangerineira sendo o melhor hospedeiro (GLMM, teste da razão de verossimilhança). Mesma letra não tem diferença significativa, teste de Tukey ( $p=0.05$ ). Foi calculado o tempo letais para mortalidade do 50 (TL50) dos indivíduos avaliados em cada planta; a tangerineira 'Ponkan' teve um tempo de sobrevivência maior dos insetos seguido pelo café, maracujá, abacate, o tratamento onde ffo fornecido apenas água o tempo de sobrevivência foi o mais curto.

Tabela 1 Mortalidade acumulada de *D. citri* (Media  $\pm$  SE) quantificada cada 24 horas.

Foi analisado o comportamento da mortalidade acumulada com GLMM. Foram analisados do dia um até o dia sete, já que a partir deste dia não há mudança nos tratamentos. No dia um, não houve diferença entre os hospedeiros e não hospedeiros. No dia dois, a mortalidade dos insetos sem alimento foi diferente aos demais tratamentos. No dia quatro, se formaram três grupos a tangerineira começou a se diferenciar dos hospedeiros alternativos, no entanto eles também são diferentes ao tratamento sem hospedeiro e está diferença permaneceu até o dia seis. Mesma letra não tem diferença significativa Tukey teste ( $p=0.05$ )

Tempo	Tangerineira		Café		Maracujá		Abacate		Água						
	$\bar{x}$	se	$\bar{x}$	se	$\bar{x}$	se	$\bar{x}$	se	$\bar{x}$	se					
1	0%	$\pm$ 0%	<b>a</b>	0%	$\pm$ 0%	<b>a</b>	0%	$\pm$ 0%	<b>a</b>	17%	$\pm$ 2%	<b>a</b>			
2	0%	$\pm$ 0%	<b>a</b>	6%	$\pm$ 3%	<b>a</b>	4%	$\pm$ 4%	<b>a</b>	21%	$\pm$ 5%	<b>a</b>	40%	$\pm$ 2%	<b>b</b>
3	2%	$\pm$ 2%	<b>a</b>	13%	$\pm$ 6%	<b>a</b>	15%	$\pm$ 7%	<b>ab</b>	31%	$\pm$ 7%	<b>b</b>	49%	$\pm$ 5%	<b>c</b>
4	2%	$\pm$ 2%	<b>a</b>	25%	$\pm$ 10%	<b>b</b>	38%	$\pm$ 7%	<b>bc</b>	48%	$\pm$ 11%	<b>c</b>	76%	$\pm$ 2%	<b>d</b>
5	2%	$\pm$ 2%	<b>a</b>	41%	$\pm$ 5%	<b>b</b>	50%	$\pm$ 6%	<b>bc</b>	59%	$\pm$ 13%	<b>c</b>	90%	$\pm$ 5%	<b>d</b>
6	2%	$\pm$ 2%	<b>a</b>	56%	$\pm$ 10%	<b>b</b>	73%	$\pm$ 2%	<b>bc</b>	67%	$\pm$ 12%	<b>c</b>	100%	$\pm$ 0%	<b>d</b>
7	2%	$\pm$ 2%	<b>a</b>	62%	$\pm$ 10%	<b>b</b>	83%	$\pm$ 5%	<b>c</b>	80%	$\pm$ 8%	<b>c</b>	100%	$\pm$ 0%	<b>d</b>

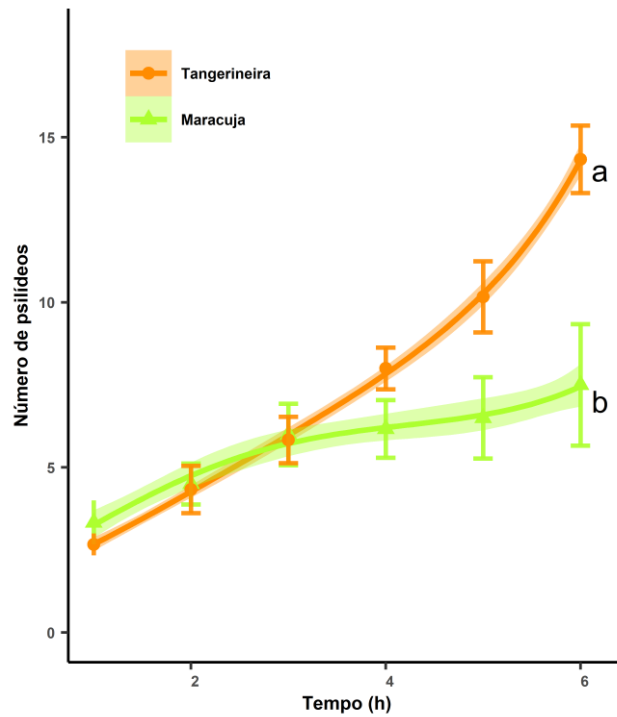


Figura 11 Número de *D. citri* na planta de maracujá e na tangerineira ‘Ponkan’ em um ensaio sem chance de escolha.

Para observar o comportamento de atração do psilídeo pela planta de maracujá foi avaliado o número de insetos presentes na planta de tangerina e na planta de maracujá no tempo. Desde a hora um até a hora três, a quantidade de insetos na planta de maracujá tem uma leve tendência de ter mais insetos, porém na quarta hora observou-se uma diferença acentuada observando mais insetos na planta tangerineira. Mesma letra não tem diferença significativa Tukey ( $p=0.05$ ).

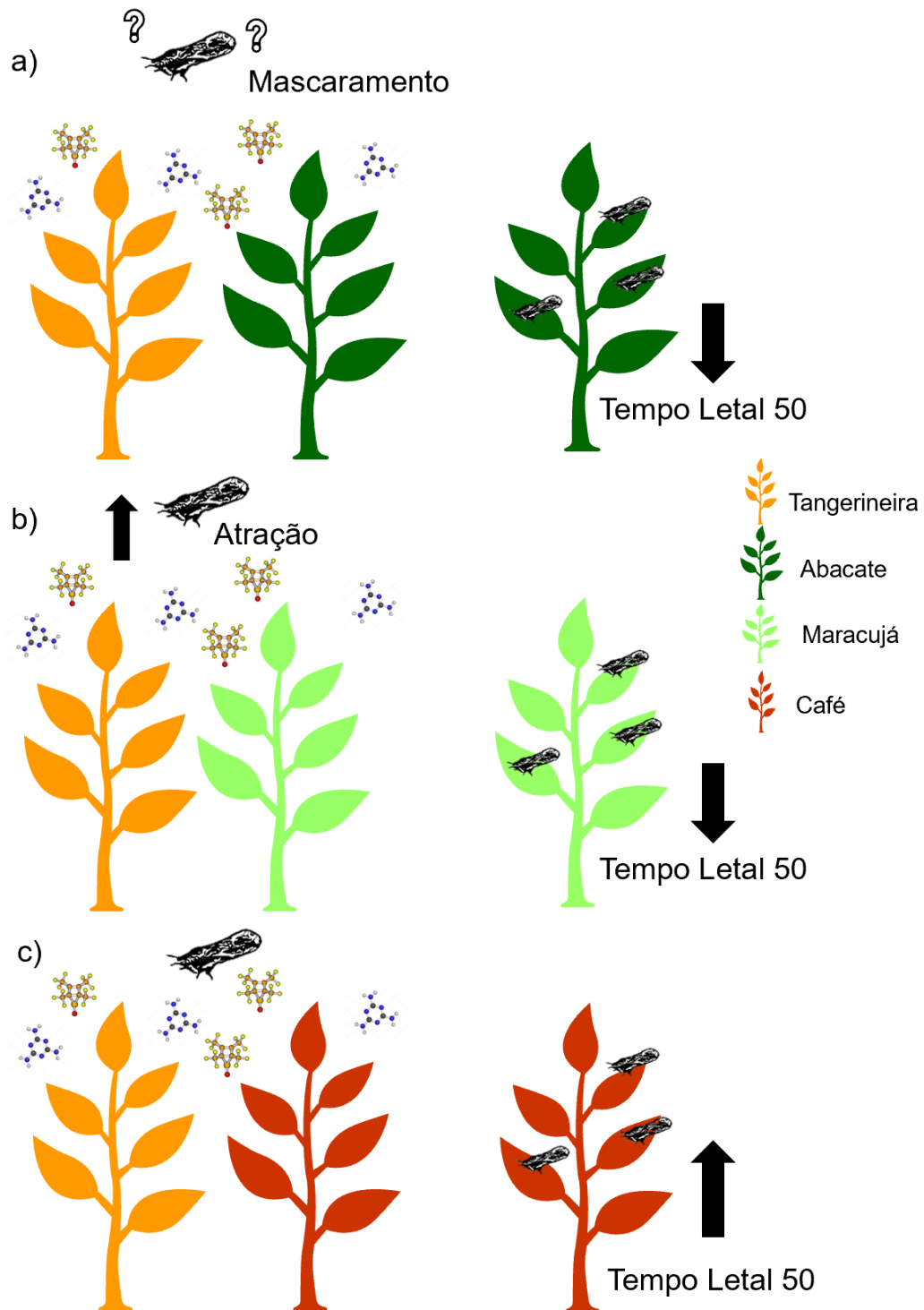


Figura 12 Efeitos das plantas não hospedeiras na escolha hospedeira e a sobrevivência do psilídeo.

a) A presença do abacate teve um efeito de mascaramento da tangerina e reduziu a vida do inseto quando foi colocado na planta de abacate; b) O maracujá teve efeito de maior atração de *D. citri* e efeito semelhante à abacate em termos de sobrevivência; c) O café, no entanto, não teve efeito na seleção do hospedeiro, mas os dados de sobrevivência mostram um tempo de sobrevivência mais longo nesta planta.