

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**DECIFRANDO AS RESPOSTAS DE *Diaphorina citri*
KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) A
COMBINAÇÕES COPA E PORTA-ENXERTOS DE CITROS:
COMPORTAMENTO DE ORIENTAÇÃO E ASSINATURAS
QUÍMICAS VOLÁTEIS**

Maria de Fátima Ferreira da Costa Pinto

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JULHO – 2025**

**DECIFRANDO AS RESPOSTAS DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA,
1908 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) A COMBINAÇÕES COPA E
PORTA-ENXERTOS DE CITROS: COMPORTAMENTO DE
ORIENTAÇÃO E ASSINATURAS QUÍMICAS VOLÁTEIS**

Maria de Fátima Ferreira da Costa Pinto
Bacharel em Ciências Biológicas, UESB, 2004

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Agrárias (Área de Concentração: Agricultura Tropical).

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Coorientadora: Profa. Dra. Marilene Fancelli
Coorientador: Dr. Francisco Ferraz Laranjeira Barbosa
Coorientador: Dr. Walter dos Santos Soares Filho

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JULHO – 2025**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**DECIFRANDO AS RESPOSTAS DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908
(HEMIPTERA: PSYLLIDAE) A COMBINAÇÕES COPA E PORTA-ENXERTOS
DE CITROS: COMPORTAMENTO DE ORIENTAÇÃO E ASSINATURAS
QUÍMICAS VOLÁTEIS**

Comissão Examinadora da Defesa de Tese de
Maria de Fátima Ferreira da Costa Pinto

Aprovada em 30 de julho de 2025

Documento assinado digitalmente



CARLOS ALFREDO LOPES DE CARVALHO

Data: 01/09/2025 10:56:29-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Alfredo Lopes de Carvalho
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Orientador

Documento assinado digitalmente



ANTONIO SOUZA DO NASCIMENTO

Data: 04/09/2025 11:56:49-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Antônio Souza do Nascimento
Embrapa Mandioca e Fruticultura - EMBRAPA
Examinador Externo

Documento assinado digitalmente



GENI DA SILVA SODRE

Data: 01/09/2025 11:48:21-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Geni da Silva Sodré
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinadora Interna

Documento assinado digitalmente



MARIA ANGELICA PEREIRA DE CARVALHO COSTA

Data: 01/09/2025 11:03:05-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinadora Interna

Documento assinado digitalmente



MICHELE DO CARMO DE SOUSA TIMOSSI

Data: 02/09/2025 11:48:23-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Michele do Carmo de Sousa Timossi
Fundo de Defesa da Citricultura - FUNDECITRUS
Examinadora Externa

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese,
A Deus;
Aos meus pais, Nelson e Vera;
Aos meus Irmãos, Nelson e Roberto;
A Nívea, companheira inseparável;
E a todos que me incentivaram a
alcançar meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida e por ter permitido que tudo pudesse se realizar conforme a sua vontade, sempre me iluminando e abençoando.

Aos meus pais e irmãos, que com seu amor e carinho, me deram força e incentivo para continuar realizando meus sonhos.

À Nívea, que desde o início do doutorado foi minha amiga, confidente, conselheira. Agradeço pela força, incentivo, carinho, paciência, pelo amor e por todos os inesquecíveis momentos que passamos juntas.

Ao meu orientador Carlos Alfredo Lopes de Carvalho pelos ensinamentos e por aceitar a orientação.

À minha orientadora Marilene Fancelli pelos ensinamentos, pela amizade, confiança e incentivo para continuar minha vida acadêmica.

Aos amigos queridos, pelos ensinamentos, pela amizade, companheirismo, pelas brincadeiras, por contribuírem para o desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas José Carlos Neri e Vandeson Rodrigues, pela cooperação, companheirismo, troca de informações e brincadeiras no laboratório.

Ao Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura, por conceder apoio logístico, material biológico e reagentes para a realização deste trabalho.

A Professora Michele Timossi, por contribuir com este trabalho, com treinamento e assessoria para as análises de EPG.

Aos bolsistas Carlos Fernandes, Orly dos Santos, Felipe Silva e Alana Carmo, por contribuírem com meu trabalho, em especial nas coletas dos dados.

Aos membros da banca julgadora do trabalho Dr. Antônio Souza do Nascimento, Dra. Geni da Silva Sodré, Dra. Maria Angélica Pereira de Carvalho Costa, Dra. Michele do Carmo de Sousa Timossi.

A Embrapa Mandioca e Fruticultura pelo apoio logístico e financeiro e pela oportunidade de estudar, trabalhar e contribuir para a agricultura brasileira.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, pela oportunidade de cursar o doutorado.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

**DECIFRANDO AS RESPOSTAS DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908
(HEMIPTERA: PSYLLIDAE) A COMBINAÇÕES COPA E PORTA-ENXERTOS
DE CITROS: COMPORTAMENTO DE ORIENTAÇÃO E ASSINATURAS
QUÍMICAS VOLÁTEIS**

RESUMO GERAL

A citricultura brasileira tem sua cadeia bem estruturada, desde viveiristas até a indústria de produtos como sucos, óleos essenciais, cosméticos e frutas frescas. Porém, essa importante agroindústria nacional está ameaçada pelo *Huanglongbing* (HLB), detectado desde 2004 no Brasil. Trata-se de uma doença bacteriana que já foi relatada nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina e Goiás; e que vem se espalhando rapidamente, chegando a 44% de incidência em 2024 na região do cinturão citrícola. A região Nordeste ainda é considerada livre da bactéria causadora do HLB e os impactos sociais e econômicos serão severos se ou quando a doença chegar a esta região. O principal meio de controle da doença está direcionado ao manejo do vetor, feito, principalmente, pelo uso de inseticidas. Dada a gravidade e a velocidade de propagação da doença, é preciso desenvolver estratégias de controle do HLB a curto, médio e longo prazo. A identificação de genótipos com mecanismos de resistência por antixenose, que dificulte a colonização, a oviposição e a alimentação pode ser um grande aliado nesse manejo. Com o objetivo geral de avaliar a interação entre *Diaphorina citri* e combinações da copa comercial de laranjeira doce 'Valência Tuxpan' em diferentes porta-enxertos, foram avaliados parâmetros de comportamento de preferência para abrigo, oviposição e alimentação, além da identificação dos perfis de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) associados às respostas do inseto. Os resultados revelaram que as combinações copa/porta-enxerto influenciaram significativamente a atratividade inicial de *D. citri*, modulada pelos diferentes perfis voláteis emitidos. Além disso, observou-se a presença de possíveis mecanismos de resistência por antixenose, com impacto sobre o acesso e a alimentação floemática do vetor. Esses achados reforçam que a resistência ao vetor é multifatorial e que, isoladamente, compostos voláteis ou barreiras anatômicas de vasos condutores podem não ser suficientes para impedir a infestação.

Palavras-chave: Greening, Psilídeo Asiático dos Citros, Interação Inseto/Planta, Controle Comportamental

**ORIENTATION BEHAVIOR OF *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908
(HEMIPTERA: PSYLLIDAE) TO CITRUS SCION-ROOTSTOCK COMBINATIONS
AND VOLATILE CHEMICAL SIGNATURES**

GENERAL ABSTRACT

Brazil's citrus industry maintains a well-structured production chain, encompassing nursery operations through to processing sectors for juices, essential oils, cosmetics, and fresh fruit. Nevertheless, this vital national agroindustry faces a severe threat from Huanglongbing (HLB), first detected in Brazil in 2004. This bacterial disease has now been identified in São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Mato Grosso do Sul, Santa Catarina, and Goiás states, exhibiting rapid dissemination with a 44% incidence rate by 2024. While Brazil's Northeast region remains free of the HLB-associated bacterium, potential incursion would precipitate profound socioeconomic repercussions. Current disease management primarily targets vector control through insecticide applications. Given HLB's severity and epidemic progression, developing short-, medium-, and long-term control strategies is imperative. The identification of genotypes exhibiting antixenosis-mediated resistance impeding vector colonization, oviposition, and feeding, represents a critical management tool. This study evaluated interactions between *Diaphorina citri* and combinations of 'Valencia Tuxpan' sweet orange scions grafted onto diverse rootstocks. We assessed behavioral parameters governing host preference, oviposition, and feeding, alongside characterizing associated volatile organic compound (VOC) profiles. Results demonstrated that scion-rootstock combinations not only modulated initial vector attraction through differential volatile emissions but also revealed potential antixenotic resistance mechanisms restricting phloem access and feeding. This underscores the multifactorial nature of vector resistance, wherein isolated volatile compounds or putative vascular barriers alone may prove insufficient.

Key words: Greening, Asian citrus psyllid, Plant-insect interaction, Volatile organic compounds

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Porta-enxertos selecionados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura para testes de atratividade e repelência à *Diaphorina citri*, genealogia, características de interesse em campo e resposta de preferência quanto ao inseto.....46

Tabela 2 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (média \pm erro padrão, em ng/24 h) emitidos por sete combinações copa e porta-enxerto de *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', obtidos por coleta em headspace dinâmico durante 24 horas (n = 5).....58

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Comparação entre as combinações estudadas para número de insetos e migrantes nas combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', com suas respectivas porcentagens de redução em relação ao controle 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' em teste de preferência na condição de dupla escolha, em gaiola telada. A comparação entre os tratamentos foi realizada por modelo linear generalizado misto (GLMM), sendo a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' usada como intercepto. *representa diferença significativa ($p < 0,05$).....90

Tabela 2 - Número de insetos e migrantes de combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em seis porta-enxertos, com suas respectivas porcentagens de redução em relação ao controle 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' em teste de preferência na condição sem escolha, em gaiola telada. A comparação entre os tratamentos foi realizada por modelo linear generalizado misto (GLMM), sendo a combinação controle usada como intercepto. *representa diferença significativa ($p < 0,05$).....92

Tabela 3 - Classificação das combinações de copa *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan' e seis porta-enxerto em relação ao comportamento de *Diaphorina citri* a partir de testes de preferência e oviposição, em condições de dupla escolha e sem escolha, tendo a combinação 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' como referência de atratividade. Cores das marcações: vermelha representa efeito negativo para o inseto, amarela representa moderado efeito contra o inseto, verde representa efeito favorável ao inseto. As estrelas representam as vantagens de cada combinação em relação a número de insetos, migrantes putativos e ovos em relação ao controle.....98

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Variáveis EPG analisadas para fêmeas de *Diaphorina citri* e descrição da atividade alimentar correspondente.....113

Tabela 2 - Proporção de formas de onda geradas pela alimentação de fêmeas de *Diaphorina citri* (n = 30) em diferentes combinações de porta-enxertos com a copa

Citrus sinensis cv. 'Valência Tuxpan', por oito horas, em estudo de EPG.....115

Tabela 3 - Médias (\pm erro padrão) dos números e duração das formas de onda geradas pela alimentação de fêmeas de *Diaphorina citri* em mudas de copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertada em sete porta-enxertos, monitorados por oito horas, em teste de EPG (n = 30).118

Tabela 4 - Síntese integrada de desempenho por combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos em relação ao comportamento alimentar de *Diaphorina citri*, pela técnica de EPG (n = 30).....122

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Sintomas do HLB em folhas e frutos de plantas de citros. (A) folhas mosqueadas que variam de verde-escuro, verde-claro ou amarelado; (B) engrossamento de nervuras; (C) amarelecimento em plantas jovens; (D) frutos com as cores da casca irregular evidenciando manchas amareladas e verde-claras; (E) espessamento de albedo e filetes alaranjados a partir da região de inserção com o pedúnculo (setas brancas) e; (F) columela espessa apresentando deslocamento do eixo central.....17

Figura 2 - Micrografia eletrônica de varredura dos vasos do floema (setas) em seção transversal infectada experimentalmente por *Ca. Liberibacter americanus* (A e B) e *Ca. Liberibacter asiaticus* (C e D).19

Figura 3 - Ciclo de vida de *D. citri*. A. ovos em brotação nova; B. ninfas de 1º a 5º instar; C. adulto.....20

Figura 4 - Mapa de presença confirmada do *Huanglongbing* no Brasil22

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Esquema do sistema de olfatometria utilizado no Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura.....47

Figura 2 - Etapas da coleta de voláteis de citros no Laboratório de Ecofisiologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A. Sistema de coleta de voláteis por aeração em ambiente controlado ($27 \pm 2^\circ$, UR $60 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12h/12h). B. Copa da planta isolada em envelope de plástico transparente (polietileno tereftalato). C. Detalhe da copa de citros com brotações jovens de 3 a 5 cm. D. Eluição dos voláteis em n-hexano para análise por cromatografia gasosa.....49

Figura 3 - Tempo de residência (min) e número de entradas de fêmeas de *Diaphorina citri* em resposta aos odores emitidos por variedade de copa de laranja doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', em condição de pé franco em comparação com plantas do mesmo genótipo enxertadas em laranja doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', em olfatômetro de 4 vias. Os valores não foram significativos com base na análise GLM Gamma com ligação log e confirmação com teste Mann-Whitney ($p < 0,05$) ($n = 30$).....52

Figura 4 - Tempo de residência (\pm erro padrão) (A) número de entradas (\pm erro padrão) (B) para fêmeas de *Diaphorina citri* em braços com combinações de copa de laranja doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e porta-enxertos testados e braços com controle ('Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'). Os tempos (min) e números de entradas foram modelados usando um modelo linear generalizado (GLM) e confirmados com teste de Mann Whitney, com significância de 5%. * Diferença significativa a 5% ($n=30$).....53

Figura 5 - Efeito do tratamento no tempo médio de residência e número de entradas (\pm erro padrão) de fêmeas de *Diaphorina citri* nos braços do olfatômetro expostos ao odor de plantas 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical' (A) e 'Valência

Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' (B) contra o ar limpo (controle), na configuração 3:1. Os tempos (min) e números de entradas foram modelados usando um modelo linear generalizado (GLM) e função de ligação Gamma e confirmados com teste de Mann Whitney, com significância de 5% (n = 30).....54

Figura 6 - Primeira escolha (\pm erro padrão) de *Diaphorina citri* em bioensaios de olfatosmetria com combinações de copa *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan' enxertada sobre diferentes porta-enxertos, comparadas ao controle 'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'. Os valores estão expressos em frequência. As comparações foram realizadas por meio do teste binomial exato, ao nível de 5% de significância. **Indica combinação que diferiu significativamente do controle ($p < 0,05$)55

Figura 7 - Porcentagem relativa das classes de compostos orgânicos voláteis encontrados em plantas de *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertadas em sete diferentes genótipos (n = 5).....56

Figura 8 - Composição dos perfis de compostos orgânicos voláteis de combinações copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em sete porta-enxerto. Os dados estão representados em proporção das classes de COVs. Os dados são representados pela média da concentração dos compostos, obtidos por coleta em *headspace* dinâmico durante 24 horas (n = 5).....60

Figura 9 - Distribuição das diferentes combinações da copa 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos no espaço tridimensional da análise de compostos principais (ACP), considerando as médias das concentrações relativas (ng/24h) dos 44 compostos orgânicos voláteis emitidos pelas folhas.....63

Figura 10 - Análise de agrupamento hierárquico (AHC) e mapa de calor usando a distância de Brays-Curtis, a partir da concentração relativa (ng/24h) dos 44 compostos voláteis de diferentes combinações da copa *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em sete diferentes porta-enxertos (n = 5). Os compostos foram agrupados por concentração, sendo o mais concentrado à esquerda. As células foram coloridas com base nas concentrações, onde vermelho representa muito concentrado e azul pouco concentrado.65

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Experimento de preferência e oviposição de *Diaphorina citri* em diferentes combinações de copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos. A. Mudanças cítricas de 40 a 50 cm de altura, com brotos de 1 a 3 cm (destaque em vermelho). B. Gaiolas contendo plantas cítricas, sendo uma gaiola com planta tratamento vs. planta controle para teste de dupla escolha; uma gaiola somente com a planta tratamento e uma gaiola somente com planta controle para teste sem escolha.....84

Figura 2 – Gráfico comparativo com a média (\pm erro padrão) do número de insetos e número de ovos encontrados entre combinações de copa de laranja doce

Citrus sinensis cv. 'Valência Tuxpan' e porta-enxertos testados e o controle ('Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz').....86

Figura 3 - Gráfico de efeito dos tratamentos a partir de análise de dados por modelo generalizado misto (GLMM) para o número de insetos encontrado nas plantas e número de insetos migrantes em teste de preferência na condição de dupla escolha, em gaiola telada. A. Número de insetos encontrados nas plantas. B. Número de insetos migrantes.....91

Figura 4 - Gráfico de efeito dos tratamentos a partir de análise de dados por modelo generalizado misto (GLMM) para número de insetos encontrado nas plantas e número de insetos migrantes em teste de preferência na condição sem escolha, em gaiola telada. A. Número de insetos encontrados nas plantas. B. Número de insetos migrantes.....93

Figura 5 - Gráfico de efeito dos tratamentos a partir de análise de dados por modelo generalizado misto (GLMM) para número de ovos encontrado nas plantas em teste de preferência, em gaiola telada. A. Condição de dupla escolha em uma gaiola contendo uma planta tratamento e uma planta controle. B. Condição sem escolha em gaiola com apenas uma planta.....95

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Mudanças de citros com copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em porta-enxertos cítricos. A. Detalhe de brotação jovem da combinação 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'. B. Detalhe de brotação jovem da combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S'.....111

Figura 2 - Ensaio de Gráficos de Penetração Elétrica (EPG). A. Detalhe do fio de ouro colado no pronoto de *Diaphorina citri*. B. Detalhe do conjunto sonda do EPG + eletrodo de cobre + fio de ouro + inseto. O inseto foi colocado na região abaxial de folhas jovens de plantas cítricas. C. Sistema de monitoramento de EPG dentro da gaiola de Faraday.....112

Figura 3 - Frequência absoluta (n = 30) de adultos de *Diaphorina citri* que apresentaram comportamento de salivação, alimentação e alimentação sustentada (> 10 min) em *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertada em sete porta-enxertos diferentes. As barras seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, por meio do teste qui-quadrado (χ^2 , $p > 0,05$).....116

Figura 4 - Tempo de início de alimentação do floema (Fase E2) de *Diaphorina citri* em relação a combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos, pela técnica de EPG (n = 30). *Diferença significativa, pelo modelo GLM Gamma ($p < 0,05$).120

Figura 5 - Proporção de tempo gasto com alimentação floemática de *Diaphorina citri* em relação a combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos, pela técnica de EPG. As barras seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, pelo modelo GLM Binomial ($p > 0,05$)121

SUMÁRIO

1.0	INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2.0	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	<i>Huanglongbing</i>	16
2.2	O vetor: <i>Diaphorina citri</i>	19
2.3	Prejuízos e perdas econômicas causadas pelo HLB.....	21
2.4	Susceptibilidade dos Citrus ao HLB e mecanismos de controle.....	23
2.5	Controle comportamental para manejo do HLB.....	26
3.0	REFERÊNCIAS.....	30
	CAPÍTULO 1 - Atratividade e antixenose em <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) influenciadas pela combinações copa/porta-enxerto de citros e seus compostos orgânicos voláteis.....	38
	RESUMO.....	39
	ABSTRACT.....	40
1.0	INTRODUÇÃO.....	41
2.0	MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1	Local, período e outras informações gerais do (s) experimento (s).....	44
2.2	Obtenção dos insetos.....	44
2.3	Obtenção e manutenção das plantas de citros.....	44
2.4	Bioensaios de olfatométria.....	47
2.5	Extração e análise química dos voláteis.....	48
2.6	Estatística.....	50
3.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1	Bioensaios de olfatométria.....	51
3.2	Extração e análise química dos voláteis.....	55
4.0	CONCLUSÕES.....	70
5.0	REFERÊNCIAS	70
	CAPÍTULO 2 - Comportamento de preferência e oviposição de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) a combinações copa-porta-enxerto de citros: implicações para o manejo do HLB.....	78
	RESUMO.....	79
	ABSTRACT.....	80
1.0	INTRODUÇÃO.....	81
2.0	MATERIAL E MÉTODOS.....	82
2.1	Local, período e outras informações gerais do (s) experimento (s).....	82
2.2	Obtenção dos insetos.....	83
2.3	Obtenção e manutenção das plantas de citros.....	83
2.4	Bioensaios de preferência e oviposição de <i>Diaphorina citri</i>	83
2.5	Estatística.....	85
3.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
4.0	CONCLUSÕES.....	100

5.0	REFERÊNCIAS	101
	CAPÍTULO 3 - Modulação do comportamento alimentar de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) em citros: antixenose como estratégia para controle do Huanglongbing	105
	RESUMO.....	106
	ABSTRACT.....	107
3.0	INTRODUÇÃO.....	108
4.0	MATERIAL E MÉTODOS.....	110
2.1	Local, período e outras informações gerais do (s) experimento (s).....	110
2.2	Obtenção dos insetos.....	110
2.3	Obtenção e manutenção das plantas de citros.....	111
2.4	Ensaio de Gráficos de Penetração Elétrica (EPG).....	111
2.5	Estatística.....	113
3.0	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	114
4.0	CONCLUSÕES.....	126
5.0	REFERÊNCIAS	127
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	130

1. INTRODUÇÃO GERAL

Cadeia de grande importância econômica, a citricultura brasileira apresenta números expressivos de produção de frutos frescos e suco, valores de comercialização e empregos gerados. Como líder na produção de laranja *in natura* e de suco, o Brasil produziu 9,4 milhões de toneladas na safra 2024/2025, com rendimentos médios para a citricultura nacional passando dos 16 bilhões de reais, sendo responsável por mais de 54 mil novos empregos gerados em 2023, segundo o Cadastro Geral de Empregados e Desempregados (Caged) (Citrusbr, 2023; Fundecitrus, 2024; IBGE 2024).

Os estados de São Paulo, Minas Gerais (Triângulo Mineiro) Paraná, Bahia e Sergipe são os maiores exportadores, tendo como principais consumidores a Europa, Estados Unidos, China e Japão, por ordem crescente (COMEXSTAT, 2024; Fundecitrus, 2024).

Apesar de sua importância econômica e social, os problemas fitossanitários ainda são grandes entraves para a citricultura mundial, vulnerável a uma gama de agentes nocivos que causam prejuízos econômicos. Grandes extensões de cultivo, perenidade da planta e base genética estreita, são algumas características que tornam os citros vulneráveis a essa gama de pragas e doenças. Cancro cítrico, leprose, pinta preta, clorose variegada, podridão floral são algumas das doenças que acometem estes cultivos. Porém, o *Huanglongbing* (HLB) merece destaque, pois ocasiona redução de produtividade entre 30 e 70% no cenário mundial (Bové, 2006; Fundecitrus, 2023; Wang *et al.*, 2019).

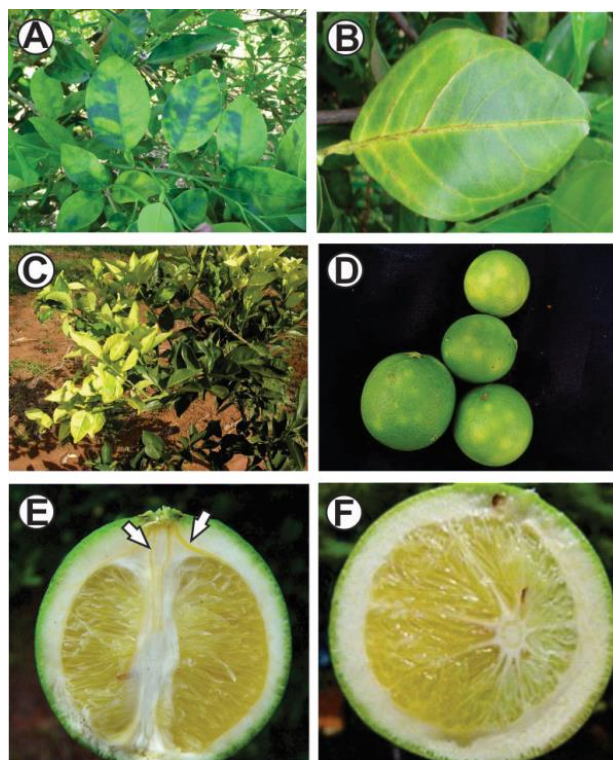
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Huanglongbing*

O *Huanglongbing* (HLB), que em chinês significa doença do dragão amarelo, também conhecido como greening dos citros, é causado por bactérias gram-negativa *Candidatus Liberibacter* spp., restritas ao floema da planta, e que ainda não foram isoladas em meio de cultura puro, o que impossibilita sua completa caracterização de acordo com as normas do Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana (Fundecitrus, 2024; Pierson *et al.*, 2022).

Essas bactérias, ao colonizarem o floema das plantas cítricas, provocam sérios distúrbios fisiológicos, incluindo alterações no metabolismo de carboidratos e na sinalização hormonal. Como consequência, ocorre o bloqueio dos vasos do floema, reduzindo significativamente o transporte de fotossintatos ao longo da planta (Aritua, 2013; Karuppaiya; Huang; Zhang, 2022; Martinelli, 2012). As plantas infectadas por *Candidatus Liberibacter* exibem sintomas característicos, como crescimento atrofiado, podridão das raízes, copa raleada, brotações com coloração amarelada, folhas pequenas e manchadas, além de floração precoce e frutos deformados e de tamanho reduzido, resultando em um declínio progressivo da árvore (Figura 1) (Efrom; Souza, 2018; Gottwald, 2010; Hu, 2021).

Figura 1 - Sintomas do HLB em folhas e frutos de plantas de citros. (A) folhas mosqueadas que variam de verde-escuro, verde-claro ou amarelado; (B) engrossamento de nervuras; (C) amarelecimento em plantas jovens; (D) frutos com as cores da casca irregular evidenciando manchas amareladas e verde-claras; (E) espessamento de albedo e filetes alaranjados a partir da região de inserção com o pedúnculo (setas brancas) e; (F) columela espessa apresentando deslocamento do eixo central.



Autor: Efrom; Souza, 2018

A forma mais difundida, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas), é a espécie mais amplamente distribuída, relatada pela primeira vez na Ásia, mas se

espalhou para a África, Oriente Médio e América do Norte, Central e do Sul (Gottwald *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2019).

Nos primeiros anos após a detecção do HLB no Brasil, a bactéria *Candidatus Liberibacter americanus* (CLam) era a espécie predominante nos pomares cítricos. No entanto, a partir de 2007, *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) passou a se disseminar com maior intensidade, tornando-se atualmente a espécie mais frequente no cenário brasileiro. Esse predomínio está associado à sua maior competitividade e melhor adaptação às condições ambientais locais, especialmente pela maior tolerância às elevadas temperaturas observadas no país. Em contraste, na África, o HLB está majoritariamente associado à espécie *Candidatus Liberibacter africanus* (CLaf) (Lopes, 2009; Teixeira, 2010).

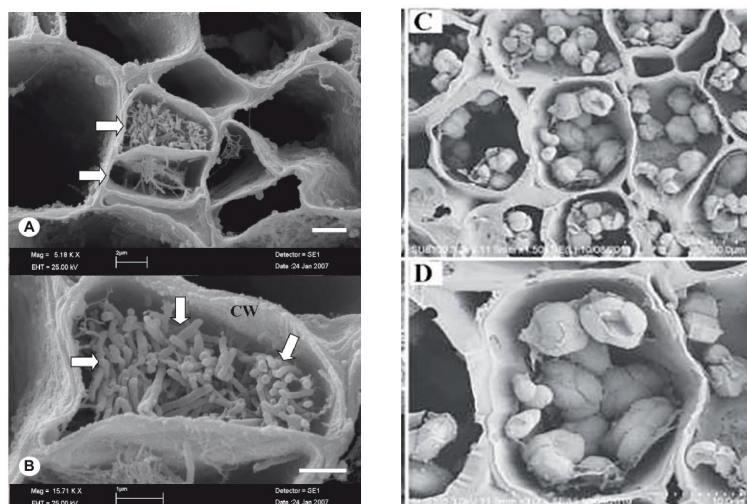
Estas bactérias são patógenos intracelulares obrigatórios e têm genomas relativamente pequenos (c.1.2 Mb) (Dominguez-Mirazo; Jin; Weitz, 2019). Todos os três patógenos ocorrem de forma persistente, circulativa e propagativa dentro do inseto vetor após a aquisição durante a alimentação das plantas (Gottwald, 2010). Estudos revelam que CLas não é capaz de sintetizar triptofano, tirosina, leucina, isoleucina e valina a partir de intermediários metabólicos, provavelmente importando-os de seus hospedeiros ou vetor. Há relatos de que CLas consegue manipular o metabolismo do seu vetor *Diaphorina citri* para obter nucleotídeos energéticos e isso resulta em uma vida útil mais curta do inseto, além de alteração em seu comportamento (Killiny; Jones, 2017). Estudos mostram, que bactéria estimula respostas imunes da planta, como deposição de calose, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e indução de genes do sistema imune da planta (Maw *et al.*, 2022).

As espécies patogênicas de *Ca. Liberibacter* são difíceis de estudar por causa de sua incapacidade de ser cultivada em meio de cultura, sua natureza limitada ao floema e sua vida intracelular em plantas hospedeiras (Figura 2). A diversidade genética deste grupo de bactérias é pouco compreendida e os estudos de diversidade se concentraram principalmente nas sequências de profagos que auxiliam na supressão das defesas da planta (Karuppaiya; Huang; Zhang, 2022).

Devido ao longo período de incubação da bactéria, que pode variar entre 2,5 e 18 meses, as árvores cítricas infectadas não apresentam sintomas visíveis no estágio inicial da infecção. Além disso, a duração do período de latência varia dependendo da variedade cítrica, idade da árvore, condição fitossanitária da planta

e fatores ambientais, que dão origem às infecções assintomáticas da doença (Canale; Komada; Lopes, 2020; Efrom; Souza, 2018; Hu *et al.*, 2021).

Figura 2 - Micrografia eletrônica de varredura dos vasos do floema (setas) em seção transversal infectada experimentalmente por *Ca. Liberibacter americanus* (A e B) e *Ca. Liberibacter asiaticus* (C e D).



Autores: A e B - Tanaka *et al.*, 2007. C e D Karuppaiya; Huang; Zhang, 2022

A árvore infectada pelo HLB apresenta sintomas em várias partes da planta, dependendo do estágio da infecção. Se a infecção ocorrer logo após a propagação, toda a árvore é afetada e fica amarela em todo o dossel, o que leva a um declínio rápido da planta. Porém, se a infecção ocorrer após o período de propagação, apenas o setor infectado apresentará sintomas no caso de citros afetados, enquanto as demais partes apresentarão crescimento normal e frutos de boa qualidade (Karuppaiya; Huang; Zhang, 2022).

CLas e CLam são transmitidos pelo psilídeo asiático dos citros, *Diaphorina citri*, Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae); enquanto *Candidatus* L. africanus é transmitida pelo psilídeo africano *Trioza erytrae* Del Guercio, 1918 (Hemiptera: Triozidae) (Bove, 2006; Wang *et al.*, 2019).

2.2 O vetor: *Diaphorina citri*

D. citri tem comprimento médio de 2-3 mm na fase adulta, possui três estágios de desenvolvimento (ovo, ninfa e adulto) (Figura 3), atingem a maturidade sexual entre 4 e 7 dias após a emergência do adulto e as fêmeas podem colocar

até 800 ovos, a maioria logo na primeira semana após o início do período de oviposição (Nava *et al.*, 2007). O psílideo se alimenta em folhas de qualquer estágio de desenvolvimento, sendo facilmente reconhecido por se posicionarem com a linha do corpo formando um ângulo de 45° com a superfície da planta (Hall; Hent; Adair, 2008).

Figura 3 - Ciclo de vida de *D. citri*. A. ovos em brotação nova; B. ninfas de 1° a 5° instar; C. adulto.



Autor: Cunha, 2018

A duração do ciclo biológico da *D. citri* é bastante variada e dependente da temperatura, podendo ser de 43,5 dias a 18° C ou de apenas 12,1 dias a 32° C (Nava *et al.*, 2007). As fêmeas colocam seus ovos, preferencialmente, em gemas de folhas novas, axila das folhas e em brotações entre o estágio vegetativo V1 a V3 (Cifuentes-Arenas *et al.*, 2018). Portanto, épocas de brotações em plantas cítricas são período crucial para o manejo e controle deste vetor.

O psílideo adquire a bactéria ao se alimentar nas plantas doentes e a transmite ao salivar nos vasos do floema. Tanto a aquisição quanto a inoculação da bactéria ocorrem após 15 minutos de alimentação, mas quanto mais tempo ele se alimenta, maiores são as taxas (Ammar *et al.*, 2014). A aquisição da bactéria também é maior quando o psílideo está na fase de ninfa, e a inoculação maior em brotos do que em folhas maduras (George *et al.*, 2018). Após a aquisição, há necessidade de um período de incubação da bactéria por duas a três semanas para que o inseto seja capaz de transmitir a bactéria por toda a vida, que é de três a quatro meses (Cunha, 2018; Efrom *et al.*, 2018). Estudos mostram que a fêmea pode transmitir a bactéria verticalmente à progênie e que a transmissão pode ocorrer de forma horizontal de macho para fêmea durante a cópula (Mann *et al.*, 2012).

A população do vetor começa a aumentar no início da primavera e tem seu pico populacional no início do verão (novembro a janeiro, no Brasil), justamente no período de brotação das plantas de citros. Porém, o inseto está presente em pomares de citros o ano inteiro, podendo ter picos populacionais durante o outono e o inverno. Por permanecer por toda sua vida infectivo, as medidas de controle devem ser tomadas a fim de eliminar ou reduzir as populações do inseto no pomar, principalmente neste período (Efrom; Souza, 2018).

O principal método utilizado para o controle deste inseto é o uso de agroquímicos, o uso foi intensificado nos pomares cítricos desde o aparecimento da doença, ocasionando sérios efeitos colaterais como o desenvolvimento de populações resistentes de *D. citri* e outras pragas, redução de populações de insetos benéficos e a promoção de surto de pragas secundárias (Gottwald; Graça; Bassanezi, 2007; Volpe *et al.*, 2020).

É importante lembrar que a bactéria também pode ser transmitida pela enxertia de borbulhas infectadas em plantas sadias e que mudas contaminadas pelo HLB são um importante meio de disseminação da doença (FUNDECITRUS, 2022).

O psilídeo pode se desenvolver em várias espécies da família Rutaceae, sendo os hospedeiros mais adequados a *Murraya paniculata* (L.) Jack conhecida por murta, e a laranjeiras da variedade 'Valência' (Cunha, 2018). A murta, muito utilizada como planta ornamental ou para formação de cerva-viva, traz grande preocupação, pois pode abrigar populações do inseto próximo a pomares de citros, sendo fonte de inoculo para os insetos mesmo que plantas sintomáticas sejam erradicadas de pomares.

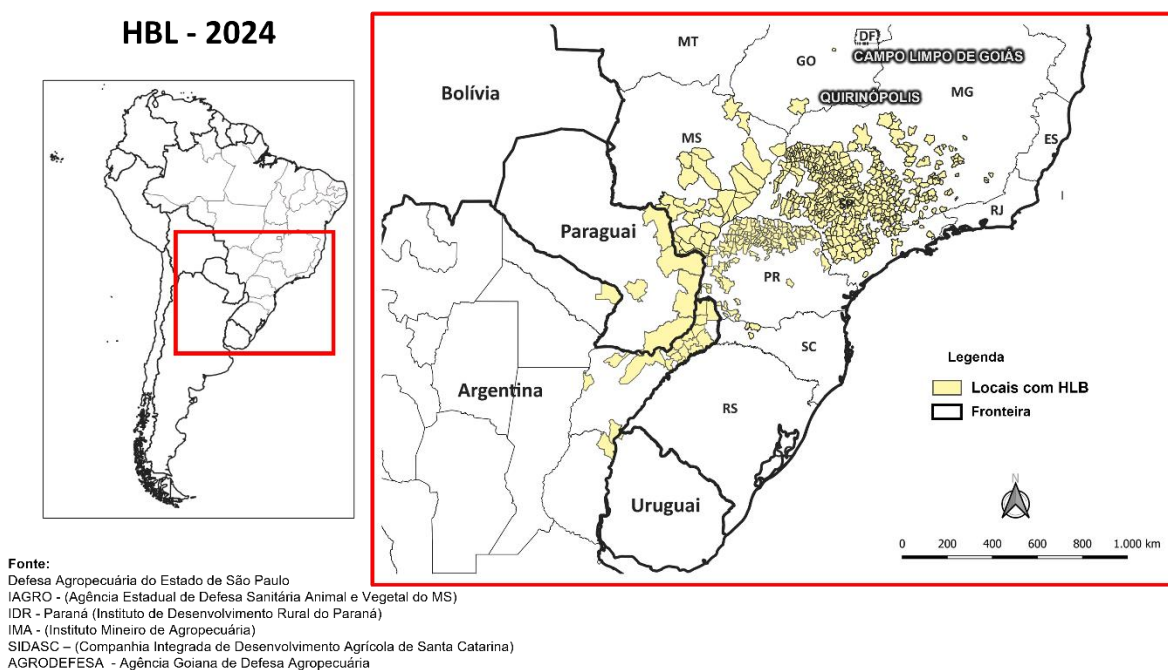
2.3 Prejuízos e perdas econômicas causadas pelo HLB

Com exceção da Europa, todos os continentes já têm registro da doença. Estudos realizados em diferentes regiões citrícolas do mundo mostram que pomares inteiros podem tornar-se inviáveis economicamente entre sete e dez anos após o aparecimento da primeira planta sintomática, chegando entre quatro a cinco anos em pomares jovens, se medidas de controle não forem implementadas (Belasque Jr *et al.*, 2010; Gottwald; Graça; Bassanezi, 2007).

Os danos causados pelo HLB à citricultura nacional são devastadores, com avanços significativos a cada ano. Segundo um levantamento do FUNDECITRUS, a incidência média da doença subiu de 38,06% (77,22 milhões de árvores doentes) em 2023 para 44,35% em 2024 no cinturão citrícola brasileiro, com mais de 90 milhões de árvores infectadas (FUNDECITRUS, 2025). Dados do FUNDECITRUS apontam eliminação de cerca de 60 milhões de árvores, 23% do total de pés de citros no país, nestes 21 anos da presença da bactéria no Brasil (FUNDECITRUS, 2025).

A doença, diagnosticada em 2004, era restrita a São Paulo, Minas Gerais e Paraná. Porém, segue avançando pelo território nacional, tendo sido confirmada em Mato Grosso do Sul em 2020, em Santa Catarina em 2022, com a hipótese é de que a introdução do HLB no estado tenha ocorrido por meio de mudas contaminadas, oriundas de comércio clandestino; e mais recentemente em Goiás em 2024 (Figura 4) (FUNDECITRUS, 2022; GOIÁS, 2024).

Figura 4 - Mapa de presença confirmada do Huanglongbing no Brasil.



Autor: FUNDECITRUS, 2024

Especialistas atribuem o aumento da disseminação do HLB a diversos fatores, entre eles o clima favorável ao vetor, a alta densidade de plantas nos pomares, a dificuldade na coordenação de estratégias de controle em nível regional

e, sobretudo, à permanência de plantas doentes nos talhões, devido à resistência ou negligência por parte de alguns produtores. Outro aspecto destacado pelos pesquisadores é o uso contínuo e sem rotação de inseticidas do grupo dos piretroides, o que favorece a seleção de populações de *D. citri* resistentes a esses produtos, comprometendo a eficácia do controle químico (FUNDECITRUS, 2022; FUNDECITRUS, 2023).

A região Nordeste, importante produtora de citros, especialmente lima e limões, ainda é considerada livre dessa doença. Os impactos sociais e econômicos serão desastrosos se ou quando a doença chegar a esta região. Oliveira *et al.* (2013) apontaram para impactos em torno de dois bilhões de reais, caso ocorra a introdução e estabelecimento da doença na Bahia, em cenário de não adoção de medidas de manejo.

2.4 Susceptibilidade dos *Citrus* ao HLB e mecanismos de controle

Há relatos de mais de 56 hospedeiros para o psílídeo vetor do HLB, concentrados na família Rutaceae, tendo a *Murraya paniculata* (L.) Jack como hospedeiro preferencial. Plantas do gênero *Citrus* e afins também são amplamente relatadas como hospedeiras desta praga, sendo a maioria altamente suscetível às bactérias *Candidatus Liberibacter* spp. (Pérez-Artiles *et al.*, 2017).

A escolha do hospedeiro pelo psílídeo é complexa, envolvendo vários fatores como variedade e estágio nutricional da planta, dimensões e presença de tricomas nas folhas, presença de brotações jovens, quantidade de ceras na superfície foliar e o perfil de voláteis emitidos, os quais exercem influência no comportamento de localização, alimentação e oviposição (Alves *et al.*, 2018; Teck *et al.*, 2011; Tomaseto *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2015). Esta estreita relação entre psílídeo e hospedeiros é mediada, principalmente, por estímulos visuais, olfativos e gustativos (Alves *et al.*, 2018).

Ainda não há variedades comerciais de citros tolerantes ou resistentes ao HLB, apesar de relatos de resistência total ou parcial de alguns parentes cítricos da subfamília Aurantioideae, como *Eremocitrus glauca* (Lindl.) Swingle (lima do deserto australiano) e algumas espécies de *Microcitrus* da Oceania (*M. australis*, *M. warburgiana* e *M. papuanae*) (Alves *et al.*, 2022; Cifuentes-Arenas *et al.*, 2018; Ramadugu *et al.*, 2016). Estas espécies ainda estão sendo incorporadas

em programas de melhoramento genético de citros na tentativa de desenvolver a resistência total e durável para cultivares comerciais (Alves *et al.*, 2022). Algumas cultivares de *Citrus indica* e *C. macroptera*, e alguns híbridos como *Poncirus trifoliata* × *Citrus reticulata* e a tangerineira ‘Sugar Belle’ (*C. reticulata* Clementine × Minneola) mostraram moderada tolerância a bactéria (Killiny *et al.*, 2017).

Enquanto essa realidade não chega, os esforços para o controle da doença focam na redução do inoculo bacteriano com a erradicação de plantas sintomáticas, no desenvolvimento de técnicas de diagnóstico precoce da doença, certificação de mudas saudáveis para novos plantios e, principalmente, no controle do inseto vetor, *D. citri* (FUNDECITRUS, 2022; Parra *et al.*, 2010)

Há diversas tecnologias disponíveis ou em desenvolvimento para o controle populacional do inseto, como uso de manta metalizada para cobertura de solo, e cobertura de plantas com um filme de partículas minerais, como o caulim, visando diminuir os estímulos visuais do inseto para a localização do hospedeiro (Miranda, 2019); controle biológico com uso dos parasitoides *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam & Agarwal), os coccinélidos *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) e *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773); ou fungos entomopatogênicos, como *Cordyceps javanica*, *Lecanicillium lecanii* (R. Zare & W. Gams, 2001), *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. (1912), *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (1883) (Boucias; Meyer; Hoy, 2008; Stauderman *et al.*, 2012; Corallo *et al.*, 2021).

Destacam-se também os estudos de outras técnicas como RNA de interferência (RNAi) contra *D. citri* (Hajeri *et al.*, 2014; Santos-Ortega; Killiny, 2018); a manipulação genética para introdução de genes emissores de voláteis menos atraentes ao psílídeo (Alquézar *et al.*, 2021), o desenvolvimento de iscas olfativas para monitoramento e óleos essenciais de citros repelentes para *D. citri* (Andrade *et al.*, 2016). Porém, essas técnicas ainda não se mostraram promissoras para uso em escala comercial e há um grande desafio para retardar o avanço da doença no Brasil, especialmente, na região Nordeste.

O principal método utilizado para o controle deste inseto é o uso de agroquímicos que foi intensificado nos pomares cítricos desde o aparecimento da doença, ocasionando sérios efeitos colaterais como o desenvolvimento de populações resistentes de *D. citri* e outras pragas resistentes, a redução de

populações de insetos benéficos e a promoção de surto de pragas secundárias (Gottwald; Graça; Bassanezi, 2007; Volpe *et al.*, 2020).

Os especialistas alertam que a resistência do psilídeo aos inseticidas está aumentando, favorecendo o crescimento de populações no campo, conseqüentemente, aumentando a incidência da doença de forma gradual, exigindo novas formas de abordagens para gerenciar a doença (Alves *et al.*, 2022).

Dada a gravidade e a velocidade de propagação do HLB, é preciso desenvolver estratégias de controle do HLB a curto, médio e longo prazo (Stuchi; Girardi, 2010). Em 2022, o Ministério da Agricultura e Pecuária, após um processo de sistematização e hierarquização de pragas de maior risco fitossanitário para o país, classificou a bactéria *Ca. Liberibacter asiaticus* e seu vetor *Diaphorina citri* como de muito alto e alto risco, respectivamente. Tal classificação justifica o direcionamento e priorização de pesquisas, pelos institutos de pesquisa e universidades, que visem desenvolver ações de manejo e controle eficiente do vetor, bem como prevenir a dispersão da doença em áreas ainda indenes no país (Brasil, 2022).

Ao longo dos últimos anos, pesquisadores vêm evidenciando os benefícios do uso do manejo integrado de pragas para minimizar a disseminação do HLB. Uma das técnicas de manejo integrado é o uso de pomar multiculturas para reduzir os danos causados por insetos e doenças (Gottwald *et al.*, 2010). Esta técnica, conhecida como *push-pull*, consiste em utilizar plantas como iscas para atrair, repelir ou confundir o inseto, protegendo a cultura alvo (Yan; Zeng; Zhong, 2015).

O *push-pull* é uma ação combinada entre componentes repelentes (*push*) como repelentes sintéticos, voláteis de plantas não hospedeiras, semioquímicos derivados do hospedeiro, feromônios repelentes ou dissuasivos e compostos que impeçam a postura de ovos; e componentes atraentes (*pull*) como estimulantes visuais, voláteis do hospedeiro, feromônios sexuais, feromônios de agregação, estimulantes gustativos e estimulantes da postura de ovos (Yan; Zeng; Zhong, 2015).

Estudos mostram que a estratégia *push-pull and kill*, em que árvores cítricas tratadas com produtos que interferem negativamente na capacidade dos insetos de encontrar hospedeiros, como o caulim, combinadas com culturas armadilhadas tratadas com inseticida na borda do pomar cítrico, podem reduzir significativamente o número de psilídeos em árvores cítricas. Eduardo *et al.* (2023)

observaram redução de até 95% de psilídeos encontrados em pomares de citros submetidos à estratégia *push-pull and kill* em comparação com o controle não tratado.

Para auxiliar nesta técnica, estudos de identificação de mecanismos de resistência das plantas ao inseto vetor são interessantes. Identificar genótipos com características de antixenose, mecanismo de defesa que impede ou dificulta a alimentação, o estabelecimento e oviposição do inseto; e antibiose, mecanismos que afetam negativamente o desenvolvimento e sobrevivência do inseto após a alimentação, pode ter impacto direto na redução de populações de insetos pragas em pomares comerciais (Borgoni *et al.*, 2014; Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019; George *et al.*, 2018).

Neste sentido, estudos de ecologia química são fundamentais para entendimento das interações entre plantas e insetos e os compostos orgânicos voláteis (COVs) têm papel fundamental nessas interações.

2.5 Controle comportamental para manejo do HLB

Compostos orgânicos voláteis são metabólitos emitidos pelas plantas e têm grande influência na atmosfera do planeta e nas interações tróficas. São responsáveis por repelir os insetos praga e atrair polinizadores e inimigos naturais de pragas, e estão relacionados com as defesas químicas das plantas, incluindo a comunicação entre plantas em caso de necessidade de defesa (Choudhary; Johri; Prakash, 2008; Volpe *et al.*, 2020).

As plantas apresentam diferentes respostas em relação a diferentes tipos de estresses como térmico, hídrico, salino e danos mecânicos. A taxa de emissão e os perfis de COVs são dependentes de fatores fisiológicos da planta, uma vez que influenciam a disponibilidade de precursores desses voláteis; bem como de fatores físico-químicos, uma vez que limitam a volatilidade, a difusão dentro das folhas e a difusão da fase gasosa na interface folha-atmosfera (Niinemets; Loreto; Reichstein, 2004).

As pistas olfativas, mediadas pelos COVs emitidos pelas plantas, são importantes fontes de informação para a identificação dos hospedeiros mais ou menos apropriados para *D. citri*, tanto para sua alimentação e abrigo quanto para

a reprodução (Patt *et al.*, 2014). Esse comportamento diferenciado do vetor se deve às diferenças na composição dos COVs emitidos pelos diferentes hospedeiros.

Há diversos relatos na literatura sobre como os COVs influenciam no comportamento de *D. citri*, especialmente para localização de hospedeiros para alimentação e oviposição (Eduardo *et al.*, 2023; Fancelli *et al.*, 2018; Hijaz; Nehela; Killiny, 2016; Jones; Killiny, 2021; Li *et al.*, 2024; Santos Silva *et al.*, 2023). Os insetos, por meio dos neurônios receptores olfativos, conseguem reconhecer os voláteis específicos produzidos dentro de uma gama de voláteis presentes no ambiente, e identificar seus hospedeiros preferenciais (Bruce; Pickett, 2011; Magalhães *et al.*, 2018).

Portanto, entender os mecanismos de comunicação química entre insetos e plantas, bem como as alterações no comportamento do inseto em relação aos COVs emitidos pelas plantas hospedeiras é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentável (Magalhães *et al.*, 2018).

Para *D. citri*, efeitos de atração mediada por COVs já foram identificados para algumas espécies como murta (*Murraya paniculata* (L.) Jack), curry (*Bergera koenigii* (L.) Sprengel) e arruda (*Ruta graveolens* L.) (Albuquerque, 2020; Beloti *et al.*, 2017; Eduardo *et al.*, 2023; Tomaseto *et al.*, 2019). Efeito de repelência para este vetor foi identificado para plantas de goiaba (*Psidium guajava* L.), manga (*Mangifera indica* L.) e caju (*Anacardium occidentale* L.) (Fancelli *et al.*, 2018; Nesumi *et al.*, 2008).

Estresse biótico também influencia no comportamento dos voláteis em citros. Foi observado que a infecção das plantas de citros pela bactéria CLas estimula a liberação do volátil salicilato de metila (MeSA) que tem influência no comportamento de atração tanto do psíldeo, vetor da doença, quanto do seu parasitoide, *T. radiata* (Mann *et al.*, 2012; Martini *et al.*, 2016). Pesquisas comprovam que patógenos conseguem induzir uma mudança nos voláteis das plantas cítricas de forma a torná-la atraente para seus vetores quando comparadas a plantas não infectadas, um comportamento que promove a disseminação do patógeno no pomar (Davis *et al.*, 2012; Mann *et al.*, 2012; Mas; Vereijssen; Suckling, 2014; Martini *et al.*, 2016; Mauck; Moraes; Mescher, 2010).

A combinação copa e porta-enxerto também pode ter relevância no perfil de voláteis emitidos pelas plantas, e consequentemente, no comportamento do inseto. Há evidências de que os genótipos podem apresentar diferentes respostas

quanto à suscetibilidade ao inseto, o que pode contribuir para programas de melhoramento genético de citros (Jones; Killiny, 2021).

Diferentes porta-enxerto promoveram diferentes perfis de voláteis na copa Sugar Belle [tangerina 'Clementine' (*C. reticulata*) × tangelo 'Minneola' (*C. × Tangelo*), toranja 'Duncan' (*C. paraiso*) × 'Dancy' tangerine (*C. reticulata*)] (Jones; Killiny, 2021). Raddatz-Mota *et al.* (2019), estudando voláteis de óleos essenciais de frutos cítricos, observaram que apenas a combinação de porta-enxerto laranja azeda com copa lima da Pérsia (*Citrus latifolia* Tanaka) produziu β-mirceno quando comparada com combinações de copa lima com os porta-enxertos limoeiro Volkameriano (*C. volkameriana*), Flying dragon (*P. trifoliata*), citrumelo Swingle (*C. paradisi* × *P. trifoliata*) e citrange C-35 (*C. sinensis* × *P. trifoliata*), e que o porta-enxerto C-35 produziu níveis de aldeídos mais altos que os outros porta-enxertos estudados. O porta-enxerto laranja azeda, em estudo com híbrido copa Pomelo × Toranja, também produziu monoterpenos e sesquiterpenos em concentrações mais elevadas que os porta-enxertos Volkameriano e *Citrus macrophylla* Wester (Benjamin; Tietel; Porat, 2013).

Além de estratégias químicas, os mecanismos de defesa dos genótipos cítricos contra a colonização e oviposição de *D. citri* envolvem estratégias físicas como presença de tricomas, espessamento de parede, presença de anéis esclerenquimatosos ao redor dos vasos de seiva, presença de cera, formação de calose; e bioquímicas como a presença de fagodeterrentes e de compostos fenólicos que interferem negativamente no comportamento do psíldeo (Alves *et al.*, 2018; Ammar *et al.*, 2014; George; Lapointe, 2019; Shugart *et al.*, 2019).

Mecanismos de resistência por antixenose têm sido documentados em *Poncirus trifoliata* e em seus híbridos, evidenciando-se como um importante mecanismo de redução da atratividade e colonização de *D. citri* (Westbrook *et al.*, 2011; George; Lapointe, 2019; Hernández-Suárez *et al.*, 2021; Jones; Killiny, 2021). Em particular, Borgoni *et al.* (2014) demonstraram que *P. trifoliata* cv. 'Rubidoux' apresentou o menor índice de oviposição quando comparado a sete genótipos cítricos, reforçando o papel do porta-enxerto na modulação comportamental do inseto em relação à copa. Estudos de Tsai e Liu (2000), Pérez Artiles *et al.* (2017) e Alves *et al.* (2018) complementam esse quadro ao reportarem maior preferência e sucesso de desenvolvimento de *D. citri* em plantas de copa 'Valência' enxertadas em Limoeiro 'Cravo' em comparação a outras combinações de porta-enxertos.

Resistência por antibiose, caracterizada pela ocorrência de fatores que afetam adversamente o desempenho biológico de *D. citri*, também foi observada em diversos genótipos cítricos. Alves *et al.* (2018) registraram redução significativa da fecundidade em ‘Troyer’ e ‘Swingle’, indicando um potencial de resistência que compromete o sucesso reprodutivo do psíldeo. Em ensaios de preferência para oviposição, híbridos de *Microcitrus* e *Eremocitrus* demonstraram não apenas menor número de ovos, mas também redução da viabilidade ovo-adulto e da viabilidade ninfal, além de dissuasão de ninfas de terceiro ao quinto instar em *E. glauca* (Eduardo *et al.*, 2022), comprovando que mecanismos antibióticos podem atuar em múltiplas fases do ciclo de vida do vetor.

O comportamento alimentar do inseto, também, pode ser uma interessante ferramenta para o manejo do HLB, uma vez que apresenta variabilidade significativa entre genótipos de citros. Alves *et al.* (2018) demonstraram preferência marcada pela variedade laranja ‘Valência’, enquanto observaram menor consumo de seiva em tangerineira ‘Ponkan’ e limoeiro ‘Siciliano’. Sétamou *et al.* (2016) correlacionaram a qualidade físico-química de brotos jovens de toranja ‘Rio Red’ e limão ‘Meyer’, ricos em aminoácidos essenciais, a maior atratividade e prolongamento da alimentação no floema, contrapondo-se a brotos maduros, cujos tecidos mais lignificados apresentaram menor exploração por *D. citri*. Shugart *et al.* (2019), por sua vez, identificaram em seleções de genótipos de tangerina, pomelo e híbridos enxertados em citrange Carrizo variações no comportamento alimentar do inseto, relacionando diferenças comportamentais a metabólitos-chave como limoneno, β -mirceno e compostos fenólicos, apontados como potenciais moduladores do comportamento alimentar.

O Programa de Melhoramento Genético de Citros (PMG Citros) da Embrapa Mandioca e Fruticultura desenvolveu híbridos de porta-enxerto com características interessantes como tolerância a seca e salinidade, resistência a gomose e tolerância a tristeza, além de perfil ananicante, a partir de cruzamentos envolvendo espécies de *Citrus* e dos gêneros *Poncirus*, *Microcitrus* e *Eremocitrus*, que se caracterizam por dificultar ou mesmo impedir a multiplicação da bactéria causadora do HLB.

Com base nestas informações, esta tese buscou entender as respostas de *D. citri* a combinações copa comercial ‘Valência Tuxpan’ e porta-enxertos de citros selecionados pelo PMG Citros em relação ao comportamento de orientação para

abrigo, oviposição e alimentação, viabilizando a identificação de semioquímicos com potencial de uso em formulações comerciais para o manejo do psilídeo.

3 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, T. DE F. **Potencial de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) como planta-isca visando ao manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em citros**. Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, São Paulo, Brasil, 2020. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-01102020-163508/pt-br.php>. Acessado em 12 jan. 2025.

ALQUÉZAR, B.; VOLPE, H. X. L.; MAGNANI, R. F.; DE MIRANDA, M. P.; SANTOS, M. A.; MARQUES, V. V.; DE ALMEIDA, M. R.; WULFF, N. A.; TING, H. M.; DE VRIES, M.; SCHUURINK, R.; BOUWMEESTER, H.; PEÑA, L. Engineered Orange Ectopically Expressing the Arabidopsis β -Caryophyllene Synthase Is Not Attractive to *Diaphorina citri*, the Vector of the Bacterial Pathogen Associated to Huanglongbing. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, n. March, p. 1–15, 2021.

ALVES, G. R.; BELOTI, V. H.; FAGGIONI-FLORIANO, K. M.; DE CARVALHO, S. A.; MORAL, R. de A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; PARRA, J. R. P.; YAMAMOTO, P. T. Does the scion or rootstock of Citrus sp. affect the feeding and biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 77–84, 2018.

ALVES, M. N.; LOPES, S. A.; RAIOL-JUNIOR, L. L.; WULFF, N. A.; GIRARDI, E. A.; OLLITRAULT, P.; PEÑA, L. Resistance to ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*,’ the Huanglongbing Associated Bacterium, in Sexually and/or Graft-Compatible Citrus Relatives. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2021.

ALVES, M. N.; RAIOL-JUNIOR, L. L.; GIRARDI, E. A.; MIRANDA, M.; WULFF, N. A.; CARVALHO, E. V.; LOPES, S. A.; FERRO, J. A.; OLLITRAULT, P.; PEÑA, L. Insight into resistance to ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*,’ associated with Huanglongbing, in Oceanian citrus genotypes. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

AMMAR, E. D.; RICHARDSON, M. L.; ABDO, Z.; HALL, D. G.; SHATTERS, R. G. Differences in stylet sheath occurrence and the fibrous ring (sclerenchyma) between Citroncirus plants relatively resistant or susceptible to adults of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, 2014.

ANDRADE, M. D. S.; RIBEIRO, L. do P.; BORGONI, P. C.; SILVA, M. F. das G. F. Da; FORIM, M. R.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; VENDRAMIN, J. D.; MACHADO, M. A. Essential Oil Variation from Twenty Two Genotypes of Citrus in Brazil-Chemometric Approach and Repellency Against *Diaphorina citri* Kuwayama. **Molecules**, v. 21, n. 6, 2016.

ARITUA, V.; ACHOR, D.; GMITTER, F. G.; ALBRIGO, G.; WANG, N. Transcriptional and Microscopic Analyses of Citrus Stem and Root Responses to *Candidatus Liberibacter asiaticus* Infection. **PLoS ONE**, v. 8, n. 9, 2013.

BELASQUE JR, J.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P. De; BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. Controle do Huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 53–64, 2010.

BELOTI, V. H.; SANTOS, F.; ALVES, G. R.; BENTO, J. M. S.; YAMAMOTO, P. T. Curry leaf smells better than citrus to females of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 5, p. 709–716, 2017.

BENJAMIN, G.; TIETEL, Z.; PORAT, R. Effects of rootstock/scion combinations on the flavor of citrus fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 47, p. 11286–11294, 2013.

BORGONI, P. C.; VENDRAMIM, J. D.; LOURENCÃO, A. L.; MACHADO, M. A. Resistance of Citrus and Related Genera to *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 5, p. 465–469, 2014.

BOVE J.M. Huanglongbing : A Destructive, Newly-Emerging, Century-Old Disease Of Citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 1, p. 7–37, 2006.

BRASIL; Ministério da Agricultura e Pecuária. **Hierarquização de pragas de maior risco fitossanitário do brasil**, 2022.

BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1605–1611, 2011.

CANALE, M. C.; KOMADA, K. M. A.; LOPES, J. R. S. Latency and incubation of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” in citrus after vector inoculation. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, p. 320–326, 2020.

CHOUDHARY, D. K.; JOHRI, B. N.; PRAKASH, A. Volatiles as priming agents that initiate plant growth and defence responses. **Current Science**, v. 94, n. 5, p. 595–604, 2008.

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, 2018.

CITRUSBR. **Citricultura se destaca como grande geradora de empregos em 2020**. 2021. Disponível em: <<https://biodieselbrasil.com.br/citricultura-se-destaca-como-grande-geradora-de-empregos-em-2020/>>. Acesso em: 17 maio. 2021.

COMEXSTAT. Base de dados de comércio exterior do Brasil. Brasília: Ministério da Economia, 2024. Disponível em: <http://comexstat.mdic.gov.br/>. Acesso em: 04 jul. 2025.

CORALLO, A. B.; PECHI, E.; BETTUCCI, L.; TISCORNIA, S. Biological control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) by Entomopathogenic fungi and their side effects on natural enemies. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 1, 2021.

CUNHA, T. **Viabilização do uso de Bt para o manejo do HLB dos citros via redução da população de *Diaphorina citri***. Escola Superior de Agricultura Luiz

de Queiroz. Universidade de São Paulo, Brasil. 2018. Tese de Doutorado (Microbiologia Agrícola). Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11138/tde-01082018-182654/pt-br.php>. Acessado em: 12 jan. 2025.

DAVIS, T. S.; HORTON, D. R.; MUNYANEZA, J. E.; LANDOLT, P. J. Experimental Infection of Plants with an Herbivore-Associated Bacterial Endosymbiont Influences Herbivore Host Selection Behavior. **PLoS ONE**, v. 7, n. 11, 2012.

OLIVEIRA, J. M. C.; DO NASCIMENTO, A. S.; DE MIRANDA, S. H. G.; BARBOSA, C. de J.; LARANJEIRAS, F. F. Estimativa dos impactos econômicos decorrentes de eventual introdução do huanglongbing (HLB) no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 3, p. 755–762, 2013.

DOMINGUEZ-MIRAZO, M.; JIN, R.; WEITZ, J. S. **Functional and Comparative Genomic Analysis of Integrated Prophage-Like Sequences in “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”**. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/mSphere>>

EDUARDO, W. I.; SILVA, A. C.; VOLPE, H. X. L.; ALQUÉZAR, B.; PEÑA, L.; MIRANDA, M. P. Push-pull and kill strategy for *Diaphorina citri* control in citrus orchards. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 171, n. 4, p. 287–299, 2023.

EFENDI, D.; BUDIARTO, R.; POERWANTO, R.; SANTOSA, E.; AGUSTA, A. Relationship among agroclimatic variables, soil and leaves nutrient status with the yield and main composition of kaffir lime (*Citrus hystrix* dc) leaves essential oil. **Metabolites**, v. 11, n. 5, 2021.

EFROM, C. F. S.; SOUZA, P. V. D. (Org.). **Citricultura do Rio Grande do Sul: indicações técnicas**. 1. ed. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura, Pecuária e Irrigação - SEAPI; DDPA, 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, 2018.

FUNDECITRUS. Greening: o desafio continua e exige mais esforços. São Paulo, p. 14–22, 2022.

FUNDECITRUS. Inventário de Árvores e Estimativa da Safra de Laranja do Cinturão Citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro. **Sumário Executivo 2023/2024**, p. 1–16, 2023.

FUNDECITRUS. Estimativa da safra de laranja 2024/25 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro: cenário em maio. **Relatório**, n. ISSN 2446-7715, p. 1–41, 2024.

GEORGE, J.; AMMAR, E. D.; HALL, D. G.; SHATTERS, R. G.; LAPOINTE, S. L. Prolonged phloem ingestion by *Diaphorina citri* nymphs compared to adults is correlated with increased acquisition of citrus greening pathogen. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.

GEORGE, J.; LAPOINTE, S. L. Host-plant resistance associated with *Poncirus trifoliata* influence oviposition, development and adult emergence of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Pest Management Science**, v. 75, n. 1, p. 279–285, 2019.

GOIAS, AGÊNCIA GOIANA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Agrodefesa realiza medidas para controle de HLB em Goiás, após identificar dois focos no Estado**. Governo de Goiás, 2 jul. 2024. Disponível em: <https://goias.gov.br/agrodefesa/agrodefesa-realiza-medidas-para-controle-de-hlb-em-goias-apos-identificar-dois-focos-no-estado/>. Acesso em: 22 maio 2025.

GOTTWALD, T. R.; GRAÇA, J. V. Da; BASSANEZI, R. B. Citrus Huanglongbing : The Pathogen and Its Impact. **Plant Management Network**, p. 36, 2007.

GOTTWALD, T. R.; HALL, D. G.; BEATTIE, G. A. C.; ICHINOSE, K.; NGUYEN, M. C.; LE, Q. D.; BAR-JOSEPH, M.; LAPOINTE, S.; STOVER, E.; PARKER, P. E.; MCCOLLUM, G.; HILF, M. E. Investigations of the Effect of Guava as a Possible Tool in the Control/Management of Huanglongbing. **International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010)**, v. 17, n. 17, 2010.

HALL, D. G.; HENT, M. G.; ADAIR, R. C. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 4, p. 914–924, 2008.

HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E.; SUÁREZ-MÉNDEZ, L.; PARRILLA, M.; ARJONA-LÓPEZ, J. M.; HERVALEJO, A.; ARENAS-ARENAS, F. J. Feeding and oviposition behaviour of *Trioza erytreae* (Hemiptera: Triozidae) on different citrus rootstock material available in europe. **Insects**, v. 12, n. 7, 2021.

HIJAZ, F.; NEHELA, Y.; KILLINY, N. Possible role of plant volatiles in tolerance against huanglongbing in citrus. **Plant Signaling and Behavior**, v. 11, n. 3, 2016.

HU, B.; RAO, M. J.; DENG, X.; PANDEY, S. S.; HENDRICH, C.; DING, F.; WANG, N.; XU, Q. Molecular signatures between citrus and *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **PLoS Pathogens**, v. 17, n. 12, 2021.

HU, S.; ZHANG, A.; WU, H.; PENG, W.; LI, P.; SU, W. Analysis of Volatile Compounds in *Citri grandis* from Different Regions in South China and the Response of Volatile Compounds to Ecological Factors. **Molecules**, v. 30, n. 3, 2025.

JONES, S. E.; KILLINY, N. Influence of rootstock on the leaf volatile organic compounds of citrus scion is more pronounced after the infestation with *Diaphorina citri*. **Plants**, v. 10, n. 11, 2021.

KARUPPAIYA, P.; HUANG, J.; ZHANG, M. Devious Phloem Intruder *Candidatus Liberibacter* Species Causing Huanglongbing: History, Symptoms, Mechanism, and Current Strategies. Em: **Current and Emerging Challenges in the Diseases of Trees varieties**. v. 11, p. 33, 2022.

KILLINY, N.; JONES, S. E. Profiling of volatile organic compounds released from individual intact juvenile and mature citrus leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 208, p. 47–51, 2017.

KILLINY, N.; VALIM, M. F.; JONES, S. E.; OMAR, A. A.; HIJAZ, F.; GMITTER, F. G.; GROSSER, J. W. Metabolically speaking: Possible reasons behind the tolerance of 'Sugar Belle' mandarin hybrid to huanglongbing. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 116, p. 36–47, 2017.

LI, Y. J.; LIU, T. A.; ZHAO, H.; HAN, Y.; LOU, B. H.; LEI, C. Y.; SONG, Y. Q.; JIANG, H. B. Repellency, Toxicity, and Chemical Composition of Plant Essential Oils from Myrtaceae against Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera Liviidae). **Molecules**, v. 29, n. 14, 2024.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F.; BERTOLINI, E.; CAMBRA, M.; FERNANDES, N. G.; AYRES, A. J.; MARIN, D. R.; BOVÉ, J. M. Liberibacters associated with citrus huanglongbing in Brazil: "*Candidatus* Liberibacter asiaticus" is heat tolerant, "*Ca. L. americanus*" is heat sensitive. **Plant Disease**, v. 93, n. 3, p. 257–262, 2009.

MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; WOODCOCK, C. M.; WITHALL, D. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Identification of volatile compounds involved in host location by *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, p. 1–12, 2018.

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, 2012.

MARTINELLI, F.; URATSU, S. L.; ALBRECHT, U.; REAGAN, R. L.; PHU, M. L.; BRITTON, M.; BUFFALO, V.; FASS, J.; LEICHT, E.; ZHAO, W.; LIN, D.; D'SOUZA, R.; DAVIS, C. E.; BOWMAN, K. D.; DANDEKAR, A. M. Transcriptome profiling of citrus fruit response to huanglongbing disease. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, 2012.

MARTINI, X.; WILLETT, D. S.; KUHN, E. H.; STELINSKI, L. L. Disruption of Vector Host Preference with Plant Volatiles May Reduce Spread of Insect-Transmitted Plant Pathogens. **Journal of Chemical Ecology**, v. 42, n. 5, p. 357–367, 2016.

MAS, F.; VEREIJSEN, J.; SUCKLING, D. M. Influence of the Pathogen *Candidatus* Liberibacter Solanacearum on Tomato Host Plant Volatiles and Psyllid Vector Settlement. **Journal of Chemical Ecology**, v. 40, n. 11–12, p. 1197–1202, 2014.

MAUCK, K. E.; DE MORAES, C. M.; MESCHER, M. C. Deceptive chemical signals induced by a plant virus attract insect vectors to inferior hosts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 8, p. 3600–3605, 2010.

MEYER, J. M.; HOY, M. A.; BOUCIAS, D. G. Isolation and characterization of an *Isaria fumosorosea* isolate infecting the Asian citrus psyllid in Florida. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 99, n. 1, p. 96–102, 2008.

MIRANDA, M. P. De. **Manual de Psilídeo *Diaphorina citri*: medidas essenciais de controle**. 2ª edição, Araraquara, ISBN: 978-65-990337-3-5, p. 19, 2019.

NAVA, D. E.; TORRES, M. L. G.; RODRIGUES, M. D. L.; BENTO, J. M. S.; PARRA, J. R. P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9–10, p. 709–715, 2007.

NESUMI, H.; MINH, D.; ONUKI, M.; LIEM, L. T.; KOBAYASHI, H. **Case Study on Spreading of Greening (Huanglongbing) Disease into New Citrus Orchards in Tan Phu Thanh Village (Chau Thanh district, Can Tho)**. Southwest Florida Research and Education Center. Tsukuba, 2008.

NIINEMETS, Ü.; LORETO, F.; REICHSTEIN, M. Physiological and physicochemical controls on foliar volatile organic compound emissions. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 4, p. 180–186, 2004.

PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; TORRES, M. L. G.; NAVA, D. E.; PAIVA, P. E. B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 37–51, 2010.

PÉREZ-ARTILES, L.; BUSOLI, A. C.; SOTELO, P. A.; ARCILA, A. M. Biology and reproductive parameters of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in different Rutaceae hosts. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 43, n. 2, p. 141–150, 2017.

PIERSON, E. A.; CUBERO, J.; ROPER, C.; BROWN, J. K.; BOCK, C. H.; WANG, N. ‘*Candidatus Liberibacter*’ Pathosystems at the Forefront of Agricultural and Biological Research Challenges. **Phytopathology**. Vol. 112, No. 1, 2022.

RADDATZ-MOTA, D.; FRANCO-MORA, O.; MENDOZA-ESPINOZA, J. A.; RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI, L. L.; DÍAZ DE LEÓN-SÁNCHEZ, F.; RIVERA-CABRERA, F. Effect of different rootstocks on Persian lime (*Citrus latifolia* T.) postharvest quality. **Scientia Horticulturae**, v. 257, n. 07, 2019.

RAMADUGU, C.; KEREMANE, M. L.; HALBERT, S. E.; DUAN, Y. P.; ROOSE, M. L.; STOVER, E.; LEE, R. F. Long-term field evaluation reveals huanglongbing resistance in Citrus relatives. **Plant Disease**, v. 100, n. 9, p. 1858–1869, 2016.

RICHARDSON, M. L.; HALL, D. G. Resistance of *Poncirus* and citrus × *Poncirus* germplasm to the asian citrus psyllid. **Crop Science**, v. 53, n. 1, p. 183–188, 2013.

SANTOS SILVA, M.; PATT, J. M.; DE JESUS BARBOSA, C.; FANCELLI, M.; ROBERTO RIBEIRO MESQUITA, P.; DE MEDEIROS RODRIGUES, F.; SELBACH SCHNADELBACH, A. *Asian citrus psyllid, Diaphorina citri (Hemiptera: Liviidae) responses to plant-associated volatile organic compounds: A mini-review*. **Crop Protection**, v. 169, p. 106242, 2023.

SANTOS-ORTEGA, Y.; KILLINY, N. Silencing of sucrose hydrolase causes nymph mortality and disturbs adult osmotic homeostasis in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 101, n. September, p. 131–143, 2018.

SÉTAMOU, M.; SIMPSON, C. R.; ALABI, O. J.; NELSON, S. D.; TELAGAMSETTY, S.; JIFON, J. L. Quality matters: Influences of citrus flush physicochemical

characteristics on population dynamics of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae). **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, 2016.

SHUGART, H.; EBERT, T.; GMITTER, F.; ROGERS, M. The power of electropenetrography in enhancing our understanding of host plant-vector interactions. **Insects**, v. 10, n. 11, 2019.

STAUDERMAN, K.; AVERY, P.; ARISTIZÁBAL, L.; ARTHURS, S. Evaluation of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) for control of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Biocontrol Science and Technology**, v. 22, n. 7, p. 747–761, 2012.

STUCHI, E. S.; GIRARDI, E. A. Utilização de práticas culturais na citricultura frente ao Huanglongbing. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, v. 1, 2010.

TANAKA, F. A. O.; DELLA COLETTA-FILHO, H.; ALVES, K. C. S.; SPINELLI, M. O.; MACHADO, M. A.; KITAJIMA, E. W. Detection of the “*Candidatus Liberibacter americanus*” in phloem vessels of experimentally infected *Cataranthus roseus* by scanning electron microscopy. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 6, p. 519, 2007.

TECK, S.; FATIMAH, A.; BEATTIE, A.; KUEH JUI HENG, R.; SING KING, W. Influence of Host Plant Species and Flush Growth Stage on the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 536–543, 2011.

TEIXEIRA, D. do C.; WULFF, N. A.; LOPES, S. A.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P. De; SPÓSITO, M. B.; JÚNIOR, J. B.; BASSANEZI, R. B. Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 2, p. 115–128, 2010.

TOMASETO, A. F.; MARQUES, R. N.; FERERES, A.; ZANARDI, O. Z.; VOLPE, H. X. L.; ALQUÉZAR, B.; PEÑA, L.; MIRANDA, M. P. Orange jasmine as a trap crop to control *Diaphorina citri*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

VOLPE, H. X. L.; ZANARDI, O. Z.; MAGNANI, R. F.; LUVIZOTTO, R. A. G.; ESPERANÇA, V.; DE FREITAS, R.; DELFINO, J. Y.; MULINARI, T. A.; DE CARVALHO, R. I.; WULFF, N. A.; DE MIRANDA, M. P.; PEÑA, L. Behavioral responses of *Diaphorina citri* to host plant volatiles in multiple-choice olfactometers are affected in interpretable ways by effects of background colors and airflows. **PLoS ONE**, v. 15, n. 7, p. 1–17, 2020.

WANG, K.; LIAO, Y.; MENG, Y.; JIAO, X.; HUANG, W.; LIU, T. C. yi. The Early, Rapid, and Non-Destructive Detection of Citrus Huanglongbing (HLB) Based on Microscopic Confocal Raman. **Food Analytical Methods**, v. 12, n. 11, p. 2500–2508, 2019.

WESTBROOK, C. J.; HALL, D. G.; STOVER, E.; DUAN, Y. P.; LEE, R. F. Colonization of *Citrus* and *Citrus* related germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **HortScience**, v. 46, n. 7, p. 997–1005, 2011.

WU, F.; CEN, Y.; DENG, X.; CHEN, J.; XIA, Y.; LIANG, G. Movement of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) Adults between Huanglongbing-Infected and Healthy Citrus. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 410–416, 2015.

YAN, H.; ZENG, J.; ZHONG, G. The push-pull strategy for citrus psyllid control. **Pest Management Science**, v. 71, n. 7, p. 893–896, 2015.

YANG, K.; LLUSIÀ, J.; PREECE, C.; TAN, Y.; PEÑUELAS, J. Exchange of volatile organic compounds between the atmosphere and the soil. **Plant and Soil**, v. 501, p. 509-535, ago. 2024.

CAPÍTULO 1

Atratividade e antixenose em *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) influenciadas pela combinações copa/porta-enxerto de citros e seus compostos orgânicos voláteis

RESUMO

A citricultura brasileira enfrenta uma grave crise mediada pelo *Huanglongbing*, associado a bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter*, as quais são transmitidas pelo psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Ainda sem cura, essa doença apresenta dificuldade de manejo, direcionada, principalmente, ao controle do inseto vetor. O controle químico do vetor tornou-se crucial para a redução dos prejuízos causados pelo HLB. No entanto, o uso intensivo de agroquímicos vem causando sérios problemas ambientais e de resistência da praga. Estudos sobre os compostos orgânicos voláteis (COVs) têm auxiliado no entendimento dos mecanismos de comunicação química entre insetos e plantas, bem como as alterações no comportamento do inseto em relação aos COVs emitidos pelas plantas hospedeiras, o que pode auxiliar no desenvolvimento de estratégias para o manejo da doença. Com o objetivo de determinar o comportamento de seleção de *D. citri* a diferentes combinações de copa *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos de citros foram feitos bioensaios de olfatométrica e identificação dos perfis dos COVs envolvidos no processo. Os resultados evidenciaram que os perfis dos COVs emitidos pela copa são modulados pelo genótipo dos diferentes porta-enxertos, influenciando diretamente a atratividade do *D. citri*. As combinações 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' e 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' emitiram perfis de COVs diversificados, o que pode ter potencializado as respostas repelentes ao inseto. Os compostos β -cariofileno, neral, camphor, germacreno D, α -farneseno, DMNT e TMTT estão possivelmente relacionados a mecanismos de resistência de citros a *D. citri*, sendo sugeridos como candidatos promissores para semioquímicos de repelência e biomarcadores para programas de melhoramento genético de citros.

Palavras-Chave: COV, psíldeo asiático dos citros, olfatométrica, cromatografia gasosa

Attractiveness and antixenosis in *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) mediated by citrus scion-rootstock combinations and their volatile organic compounds

ABSTRACT

Brazilian citrus production faces a severe crisis due to Huanglongbing (HLB), associated with bacteria of the genus *Candidatus Liberibacter*. These pathogens are transmitted by the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). As this currently incurable disease presents significant management challenges, control efforts primarily target the vector. Chemical vector control has become crucial for mitigating HLB-induced losses. However, intensive insecticide use has raised serious environmental concerns and promoted pest resistance. Research on volatile organic compounds (VOCs) has advanced understanding of chemical communication mechanisms between insects and plants, including vector behavioral responses to host-emitted VOCs. This knowledge may inform novel disease management strategies. To determine *D. citri* host selection behavior, olfactometry bioassays were conducted using *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' scions grafted onto seven citrus rootstocks, with concurrent identification of associated volatile profiles. Results demonstrate that scion VOC profiles are modulated by rootstock genotype, directly influencing plant attractiveness to *D. citri*. The combinations 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' and 'Valência Tuxpan'/'BRS 'H. Montenegro' emitted diversified VOC profiles, potentially enhancing repellent responses. The compounds β -caryophyllene, neral, camphor, germacrene D, α -farnesene, DMNT, and TMTT are potentially involved in citrus resistance mechanisms against *D. citri*, suggesting their utility as candidate repellent semiochemicals, and biomarkers for citrus breeding programs.

Keywords: Volatile organic compounds; Asian citrus psyllid; olfactometry; gas chromatography-mass spectrometry.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui 651 mil hectares de produção de citros, concentrada, principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná e Bahia. Os rendimentos médios para a citricultura nacional passam dos 16 bilhões de reais, sendo responsável por mais de 54 mil novos empregos gerados em 2023, segundo o Cadastro Geral de Empregados e Desempregados (Caged) (Citrusbr, 2023; Fundecitrus, 2024; IBGE, 2024).

No entanto, a presença da doença *Huanglongbing* (HLB), constatada no Brasil em 2004, vem provocando perdas expressivas nas principais regiões produtoras e colocando em risco a sustentabilidade da cadeia citrícola (Fundecitrus, 2023; Girardi; Stuchi, 2010).

O HLB é uma doença associada a bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter*, as quais são transmitidas por insetos da ordem Hemiptera, família Psyllidae, conhecidos como psilídeos (Burckhardt; Ouvrard; Percy, 2021). No Brasil, foram relatadas as bactérias *Ca. L. asiaticus*, principal espécie associada à doença, e *Ca. L. americanus*, ambas transmitidas pelo psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) (Fundecitrus, 2021; Teixeira *et al.*, 2005).

Estas bactérias ficam alojadas no floema das plantas e seu acúmulo dificulta a circulação de nutrientes pelos vasos condutores de seiva. Os agravantes desta doença são a alta frequência de plantas infectadas assintomáticas no campo, devido ao longo período de incubação (2,5 a 18 meses), a inexistência de tratamento para a infecção bacteriana e grande dificuldade de controle do vetor (Belasque Jr *et al.*, 2010; Canale; Komada; Lopes, 2020). Aliado a isso, plantas resistentes a *Ca. L.* spp. ainda não são conhecidas.

A planta cítrica é constituída pela combinação de uma copa produtiva com características comerciais desejáveis e um porta-enxerto capaz de conferir à copa atributos de interesse como vigor, qualidade de fruto, produtividade, tolerância a estresses e a doenças de solo, adaptação ao clima local, uma vez que as características fisiológicas do porta-enxerto influenciam toda a planta (Castle, 2010; Embrapa, 2003).

Diante dos novos desafios para a citricultura nacional, o programa de melhoramento genético tem se dedicado ao desenvolvimento de novos híbridos que respondam a questões como mudanças climáticas, aumento de produtividade

e ameaça de doenças, como o HLB. No entanto, raramente estes esforços consideram a influência dos porta-enxertos no perfil de voláteis das folhas da copa de forma a influenciar a atratividade ou repelência ao psilídeo, o que pode ser interessante para o manejo do HLB (Jones; Killiny, 2021).

A escolha do psilídeo pelo seu hospedeiro é complexa, envolvendo vários fatores como variedade e estágio nutricional da planta, dimensões e presença de tricomas nas folhas, presença de brotações jovens, quantidade de cera na superfície foliar e o perfil de voláteis emitidos, os quais exercem influência no comportamento de localização, alimentação e oviposição (Biswas *et al.*, 2024; Teck *et al.*, 2011; Tomaseto *et al.*, 2019). Esta estreita relação entre psilídeo e hospedeiros é mediada, principalmente, por estímulos visuais, olfativos e gustativos (Alves *et al.*, 2018).

Armazenados em diferentes órgãos da planta, como raízes, folhas e frutos, os compostos orgânicos voláteis (COVs) são aleloquímicos envolvidos, diretamente, na interação da planta com o meio ambiente, incluindo a interação ecológica inseto-planta. As principais classes químicas dos COVs são hidrocarbonetos não-metânicos saturados e insaturados e hidrocarbonetos oxigenados, tais como ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas, éteres, ésteres e álcoois (Baldwin *et al.*, 2006). Destes, os monoterpenos, sesquiterpenos e voláteis de folhas verdes são os compostos mais conhecidos (Fontana *et al.*, 2011; Holopainen, 2004; Niu *et al.*, 2024).

As emissões desses compostos são influenciadas por diversos fatores bióticos como estágio de maturação da planta, densidade e área foliar, presença de fitopatógenos e artrópodes-praga; e abióticos como temperatura, umidade, radiação solar, estresse hídrico (Efendi *et al.*, 2021; Schirmer; Quadros, 2019; Yang *et al.*, 2024).

Há relatos de voláteis liberados pelas plantas para repelir os insetos herbívoros como mecanismo de defesa, a exemplo de terpenoides, como limoneno, α -farneseno, δ -cadineno, β -ocimeno, α - e β -farneseno, *D*-limoneno, β -felandreno (Alquézar *et al.*, 2021; Dardouri *et al.*, 2021; Eduardo *et al.*, 2023; Hijaz; Nehela; Killiny, 2016; Silva *et al.*, 2023; Volpe *et al.*, 2020).

Voláteis vegetais também podem atrair os inimigos naturais de herbívoros. Um exemplo disso ocorre em plantas de laranja azeda (*Citrus aurantium* L.) que emitem α -pineno e 2-etil-1-hexanol para recrutar inimigos naturais do   caro

Tetranychus urticae Koch, 1836 (Cabedo-López *et al.*, 2019). As plantas, também, utilizam COVs para comunicação em caso de perigo, induzindo plantas vizinhas não infestadas a produzirem estes compostos voláteis para se defenderem da praga, comportamento que os pesquisadores chamam de “*defensive priming*” (Jones; Killiny, 2021).

O efeito de atratividade e repelência de plantas hospedeiras a *D. citri* é evidenciado em vários trabalhos, seja por comparação entre espécies diferentes, seja diferença entre variedades da mesma espécie, especialmente de variedades de citros comerciais (Albuquerque, 2020; Beloti *et al.*, 2017; Canuto; Neto; Garruti, 2009; Eduardo *et al.*, 2023; Fancelli *et al.*, 2018; Hall; Hent; Adair, 2008; Jones; Killiny, 2021; Nesumi *et al.*, 2008; Raddatz-Mota *et al.*, 2019; Tomaseto *et al.*, 2019). Embora múltiplos fatores possam influenciar no processo de seleção hospedeira, o comportamento diferenciado do vetor se deve, principalmente, às diferenças na composição dos COVs emitidos pelos diferentes hospedeiros, atraindo, em maior ou menor grau, os insetos.

O entendimento dessa relação entre voláteis de plantas e *D. citri* é importante para identificação de hospedeiros que apresentem níveis de resistência por antixenose ou antibiose, que possam ser utilizados para a manipulação do comportamento do inseto, reduzindo o interesse do inseto pelas plantas, consequentemente, reduzindo a população do vetor e disseminação do HLB nos pomares cítricos

Estudos voltados à identificação de porta-enxertos que viabilizem a produção comercial de citros em áreas onde o HLB está presente, têm se tornado cada vez mais frequentes nas redes de pesquisa. Neste aspecto, o aprofundamento do conhecimento sobre a influência dos porta-enxertos nos processos bioquímicos e metabólicos da copa tem gerado grandes expectativas, uma vez que a variabilidade na composição dos voláteis em pomares cítricos torna ainda mais complexa a dinâmica de localização e aceitação do hospedeiro pelos insetos vetores (Albrecht; Tripathi; Bowman, 2020; Jones; Killiny, 2021; Killiny *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2019).

Diante da relevância do comportamento de seleção de hospedeiros por *D. citri* no contexto do manejo do HLB, este estudo teve como objetivo determinar o comportamento de seleção de *D. citri* a diferentes combinações da copa *Citrus*

sinensis (L.) Osbeck cv. 'Valência Tuxpan', e sete porta-enxertos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros, ao psilídeo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, período e outras informações gerais do (s) experimento (s)

Os bioensaios de olfatométrica e a coleta de voláteis foram realizados nos Laboratórios de entomologia e de ecofisiologia vegetal da Embrapa Mandioca e Fruticultura (12°40'29.9"S; 39°06'9.9"W), localizado no município de Cruz das Almas-BA. A identificação dos voláteis foi realizada no Laboratório de Semioquímicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), localizado em Brasília-DF.

2.2 Obtenção dos insetos

Adultos de *D. citri* utilizados neste estudo foram provenientes da criação do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Os insetos foram criados segundo metodologia de Skelley e Hoy (2004), em plantas de murta (*Murraya paniculata* (L.) Jack), utilizando gaiolas teladas, em sala com condições ambientais controladas, temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 5\%$ e fotofase de 14h. As mudas de murta foram manejadas com podas a cada 10 a 15 dias para disponibilização constante de brotações jovens para estimular a oviposição do inseto.

2.3 Obtenção e manutenção das plantas de citros

Genótipos de citros selecionados do Banco Ativo de Germoplasma de Citros (BAG Citros) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, previamente identificados como preferidos ou pouco preferidos (dados preliminares), foram utilizados neste estudo.

As mudas foram produzidas a partir de sementes, em tubetes de $0,25 \text{ dm}^3$. Após três meses, foram plantadas em sacos para mudas de 18 x 22 cm, em mistura de substrato de casca de pinus e solo na proporção de 1:1 e mantidas em telado protegido e adubadas com ureia e NPK quinzenalmente.

A enxertia foi feita com mudas de um ano de idade pela técnica de subgarfagem ou pela técnica de “T” invertido, a depender da variedade, produzidos em tubetes de 250 cm³. Após o pegamento, as plantas cítricas foram cultivadas individualmente em vasos plásticos com capacidade de 3 kg, utilizando uma mistura de solo e substrato de casca de pinus na proporção de 1:1 como substrato de cultivo. As plantas foram mantidas em telado antiafídico, em condição de clima tropical quente e úmido, com temperatura média diária variando entre 22°C e 34°C e umidade relativa média de 80%-90%, sob fonte de luz natural.

As plantas foram regadas três vezes por semana e a adubação feita com aplicação de adubo solúvel em água a cada 15 dias, de acordo com a recomendação para a cultura [nitrogênio (94,3 mg L⁻¹), potássio (79,7 mg L⁻¹), fósforo (23,8 mg L⁻¹), magnésio (5,47 mg L⁻¹), cálcio (58,07 mg L⁻¹), ferro (0,71 mg L⁻¹), cobre (0,98 mg L⁻¹), zinco (0,18 mg L⁻¹), manganês (0,26 mg L⁻¹), boro (0,12 mg L⁻¹) e molibdênio (0,04 mg L⁻¹)]. O manejo de pragas foi realizado por controle manual, quando necessário, para evitar a interferência de produtos químicos nos resultados (Setin; Alves de Carvalho, 2011).

A manutenção das plantas seguiu um rigoroso controle experimental, sendo utilizadas plantas de 1, 5 a 2 anos de idade, de 40 cm a 50 cm de tamanho, com brotações jovens entre 3 e 5 cm. Justifica-se esse controle, uma vez que a escolha do psíldeo pelo seu hospedeiro é complexa, envolvendo vários fatores como variedade e estágio nutricional da planta, além de presença de brotações jovens, cujos voláteis influenciam significativamente o comportamento de localização, alimentação e oviposição do inseto (Biswas *et al.*, 2024; Tomaseto *et al.*, 2019).

Para os bioensaios de olfatometria e coleta de voláteis, foi avaliada a variedade copa de laranja doce (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) cv. ‘Valência Tuxpan’ enxertada em sete genótipos porta-enxertos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Tabela 1).

O genótipo de copa também foi enxertado sobre si mesmo para testar o efeito da enxertia.

Tabela 1 - Porta-enxertos selecionados pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros da Embrapa Mandioca e Fruticultura para testes de atratividade e repelência à *Diaphorina citri*, genealogia, características de interesse em campo e resposta de preferência quanto ao inseto.

Porta-enxerto selecionado	Cruzamento	Característica de campo	Comportamento*
BRS 'H Montenegro'	Limoeiro 'Cravo' (<i>C. limonia</i>) x Trifoliata [<i>Poncirus trifoliata</i> (L.) Raf.]	Tolerante à seca, tolerante à salinidade, semiananicante, resistente à gomose, tolerante à tristeza	Pouco preferido
BRS 'Victoria'	Laranjeira Pera (<i>C. sinensis</i>) x Citrange Yuma (<i>C. sinensis</i> x <i>P. trifoliata</i>)	Tolerante à seca, semiananicante, resistente à gomose, tolerante à tristeza, resistente à morte súbita	Pouco preferido
TSKCxCTCM-008	[<i>Citrus sunki</i> hort. ex Tanaka] x citrange 'Coleman' [<i>C. sinensis</i> (L.) Osbeck x <i>P. trifoliata</i>]	Ananicante, suscetível a déficit hídrico, resistente à gomose, tolerante à tristeza	Pouco preferido
Tangerineira 'Sunki Tropical'	<i>Citrus sunki</i>	Tolerante a seca, tolerante a salinidade, resistente à gomose em sequeiro, tolerante à tristeza, resistente à morte súbita	Preferido
BRS 'Ary S'	Limoeiro Volkameriano (<i>C. volkameriana</i> V. Ten & Pasq.) x Limoeiro 'Cravo' (<i>C. limonia</i>)	Tolerante à seca, tolerante à salinidade, semiananicante, suscetível à gomose, tolerante à tristeza	Preferido
Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'	<i>Citrus limonia</i>	Tolerante à seca, tolerante à salinidade, suscetível à gomose, tolerante à tristeza, suscetível à morte súbita dos citros	Preferido
<i>Poncirus trifoliata</i> 'Flying Dragon'	<i>P. trifoliata</i>	Ananicante, suscetível à seca, resistente à gomose, resistente à tristeza	Pouco preferido

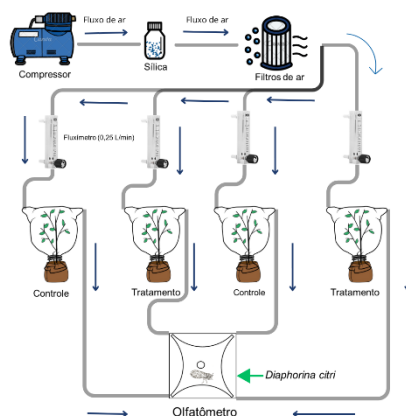
*Com base em resultados de etapas anteriores do projeto, com dados ainda não publicados, obtidos em telado e insetário, com plantas na condição de pé franco.

2.4 Bioensaios de olfatometria

As respostas comportamentais de *D. citri* foram avaliadas em bioensaios de olfatometria, em condições controladas (temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar: $70 \pm 10\%$).

Utilizou-se um olfatômetro de quatro vias (Pettersson, 1970), com as dimensões de 16,5 cm x 16,5 cm e espessura de 2 cm. O olfatômetro consistiu em uma peça de acrílico escavada em forma de X mantida entre duas placas de vidro, sendo o conjunto preso por meio de quatro cliques. O olfatômetro foi colocado no interior de uma câmara fechada, suprida com duas lâmpadas acima do olfatômetro, simulando a luz do dia (5500K +/- 500K; 3000 lux) (Figura 1).

Figura 1 - Esquema do sistema de olfatometria utilizado no Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura.



Autora: Maria de Fátima Costa Pinto

Foram testados voláteis da parte aérea das plantas, isolados mediante utilização de envelope de plástico transparente (polietileno tereftalato, 41cm x 33cm, marca Wyda) amarrado no caule desses vegetais. Ar puro, previamente filtrado, foi utilizado para promover o deslocamento dos odores das plantas para o interior do olfatômetro por meio de conexões e mangueiras de teflon.

O fluxo de ar filtrado foi mantido a 0,20 L/min em cada braço e os bioensaios foram realizados durante o período entre 09h00 e 16h00 (Eduardo *et al.*, 2023; Tomaseto *et al.*, 2019). Foram utilizadas fêmeas virgens, com quatro a sete dias de idade, mantidas em jejum por uma hora, por serem altamente responsivas aos voláteis de citros testados, de acordo com resultados preliminares para adaptação

de metodologia. O inseto foi introduzido no olfatômetro através de um orifício de 0,8 mm de comprimento feito no centro da placa de vidro superior.

Cada bioensaio teve duração de 10 min, e a cada repetição, o olfatômetro foi girado em 90°. Cada planta e olfatômetro eram trocados a três repetições. O olfatômetro foi lavado com detergente neutro, enxaguado com água destilada e álcool 70% e colocado em estufa a 120°C para secagem. Os dados foram coletados e processados utilizando o programa SOLF (Fancelli *et al.*, 2017).

Duas séries de bioensaios foram realizados. Na primeira, foi testada a resposta dos insetos aos voláteis das plantas enxertadas em contraste com a combinação da copa enxertada no porta-enxerto Limoeiro 'Cravo Santa Cruz', considerado como grupo controle em função de sua característica de atratividade. A configuração do olfatômetro foi de dois braços contendo voláteis da combinação teste e dois braços para os voláteis do controle. Para cada combinação copa/porta-enxerto, foram feitas 30 repetições.

Para a segunda série, foram selecionadas as combinações que apresentaram resposta de não preferência com diferença significativa em relação ao controle. A configuração utilizada foi de três braços para plantas do genótipo testado contra um braço de ar puro para confirmar a característica de repelência (3:1) (Vet *et al.*, 1983). Para esta segunda etapa, foram testados três tratamentos com 30 repetições.

As variáveis avaliadas foram primeira escolha, tempo médio de residência e número médio de entradas em cada campo (Babikova *et al.*, 2014) em delineamento inteiramente ao acaso.

2.5 Extração e análise química dos voláteis

Para a identificação dos perfis químicos dos voláteis, a copa das plantas foi isolada em envelope de plástico transparente (polietileno tereftalato, 41cm x 33cm, marca Wyda), ligados ao extrator de voláteis com sistema de quatro canais conectados a uma bomba de vácuo por tubulação de teflon (Figura 2).

Os voláteis foram coletados por 24h por meio de um tubo de vidro contendo 100 mg do adsorvente Porapak Q® (80-100 *mesh*, Sigma-Aldrich) a um fluxo de ar filtrado com carvão ativado bombeado a 0,6 L/min e retirado a 0,4 L/min. Essa diferença de fluxo cria pressão positiva dentro do envelope plástico para garantir

que o ar não filtrado não entre no sistema. Os voláteis impregnados nos adsorventes foram eluídos em 800 μ l de *n*-hexano e armazenados em *vials* de vidro com tampa de teflon de 2 mL.

Os extratos coletados foram concentrados para 50 μ l sob um fluxo suave de N_2 e armazenados a $-20^\circ C$ até as análises químicas. Foram coletados voláteis de cinco amostras de cada genótipo testado. Os tubos Porapak Q[®] foram condicionados antes do uso por lavagem com *n*-hexano e aquecido em estufa ($130^\circ C$) sob fluxo de nitrogênio por 2 h.

Figura 2 - Etapas da coleta de voláteis de citros no Laboratório de Ecofisiologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A. Sistema de coleta de voláteis por aeração em ambiente controlado ($27 \pm 2^\circ$, UR $60 \pm 5\%$ e fotoperíodo 12h/12h). B. Copa da planta isolada em envelope de plástico transparente (polietileno tereftalato). C. Detalhe da copa de citros com brotações jovens de 3 a 5 cm. D. Eluição dos voláteis em *n*-hexano para análise por cromatografia gasosa.



Autora: Maria de Fátima Costa Pinto.

Para análise qualitativa, foram injetados 2 μ L do extrato, com injeção manual utilizando microseringa de vidro, sendo duas repetições por tratamento. Os extratos selecionados foram analisados usando cromatógrafo gasoso (CG) (Agilent GC7890A, EUA) acoplado a um espectrômetro de massa (Agilent 5975MSD, EUA) equipado com um analisador quadrupolar, uma coluna DB-5MS (30 m \times 0,25 mm ID e filme de 0,25 μ m espessura; J&W Scientific, Folsom, CA, EUA), e um injetor *splitless* com hélio como gás de arraste. A ionização foi por impacto de elétrons (70 eV e temperatura da fonte $200^\circ C$). Os dados foram coletados e analisados com o software MassHunter Workstation 10.2 (Agilent, Califórnia, EUA).

Para análises quantitativas, foram injetados 2 μ L do extrato, com injeção automática, sendo cinco repetições por tratamento. Os voláteis de todos os

tratamentos foram analisados por GC-FID (Agilent 7890A) usando uma coluna DB-5MS não polar de 30m x 0,25 mm de diâmetro interno (espessura de filme de 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, EUA). Dois microlitros de cada amostra foram injetados usando o modo splitless com hélio como gás de arraste. A temperatura do forno foi mantida a 40 °C por 2 min, programada em 5 °C min/min até 180 °C e mantida por 0,1 min, depois 10 °C min/min, até 250 °C.

As tentativas de identificações dos compostos foram realizadas por comparação do espectro cromatográfico com as bibliotecas de banco de dados de espectros de massa (NIST, 2020), consulta à base de dados do sítio Pherobase e ao índice de Kovats (KI) da literatura (Adams, 2005, 2012). Os valores de KI foram calculados usando uma curva de calibração gerada pela injeção de uma mistura de alcanos (C8 - C26) (Fisher Scientific, Loughborough, Leicestershire, UK) sob as condições descritas anteriormente. A quantidade relativa de cada composto nas diferentes combinações, em um período de 24 h, foi calculada em relação à área do pico de hexadecanolactona (CAS 1096-29-5, Sigma Aldrich, Steinheim, Germany), adicionado como padrão interno para uma concentração final de 0,02 mg/ml. Os dados foram coletados com o software ChemStation (Agilent, Califórnia, EUA) e registrados no Excel (Microsoft Corporation, 2023).

2.6 Estatística

Para análise do tempo de residência, utilizou-se um Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição Gama e função de ligação logarítmica, devido à natureza positiva e assimétrica dos dados de tempo, garantindo adequação aos pressupostos do modelo (McCullagh; Nelder, 1989). O teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni complementou a análise por sua robustez frente a possíveis violações de normalidade residual, comparando grupos independentes (Mann; Whitney, 1947). Modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição de Poisson foram usados para analisar o efeito do tratamento no número de entradas e teste binomial exato foi utilizado para analisar dados de primeira escolha. Os pressupostos do modelo foram verificados via análise gráfica de resíduos e teste de sobredispersão. Especificamente, aplicou-se o teste de dispersão não paramétrico que compara o desvio padrão dos resíduos observados com uma

distribuição simulada de resíduos sob a hipótese nula de adequação do modelo ($p > 0,05$).

Os perfis químicos de compostos voláteis obtidos das plantas cítricas testadas foram analisados para cada composto individual por Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM) utilizando a família Tweedie, uma vez que os dados apresentaram características típicas de distribuição altamente assimétrica, com predominância de valores baixos e um grande número de zeros (ausência de detecção). No caso de diferenças significativas entre os tratamentos, a comparação entre genótipos foi feita por meio do teste de Tukey, com agrupamento por letras indicativas de diferença significativa a 5% de probabilidade.

Foi aplicada a análise multivariada de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), com o objetivo de identificar a formação de grupos entre as variedades com base na similaridade e nos valores relativos das concentrações dos compostos. Agrupamentos foram realizados mediante matriz de dissimilaridade de Bray-Curtis, utilizando ligação de Ward. Para melhor visualização dos padrões de agrupamentos, foi construído um mapa de calor com os dados normalizados.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R v.4.4.3 (R Core Team, 2025).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Bioensaios de olfatometria

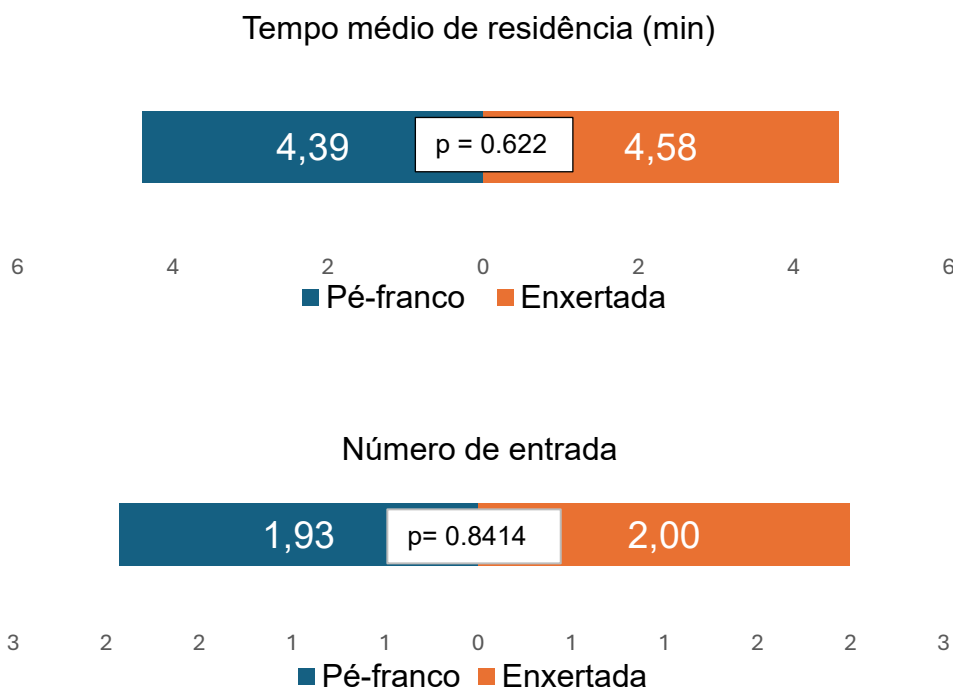
Em bioensaios de olfatometria, foram observados comportamentos diferenciados das fêmeas de *D. citri* em relação às diferentes combinações copa e porta-enxertos. Preliminarmente, para avaliar se houve efeito de enxertia, o genótipo copa foi enxertado em si mesmo e testado em bioensaios de olfatometria.

3.1.1 Bioensaios de olfatometria com *Diaphorina citri* para avaliar efeito da enxertia

Não foram observadas diferenças significativas no tempo de residência ($W = 546, p=0,65$) e no número de entradas ($W = 527, p=0,84$) de *D. citri* entre campos

contendo voláteis de laranja doce variedade 'Valência Tuxpan' em pé franco e aqueles com voláteis de laranja doce variedade 'Valência Tuxpan' enxertada nesse mesmo genótipo (Figura 3). Desse modo, os resultados mostraram que não houve efeito de enxertia para a copa de laranja doce variedade 'Valência Tuxpan'. Esses dados iniciais são importantes para eliminar vieses nos resultados subsequentes.

Figura 3 - Tempo de residência (min) e número de entradas de fêmeas de *Diaphorina citri* em resposta aos odores emitidos por variedade de copa de laranja doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', em condição de pé franco em comparação com plantas do mesmo genótipo enxertadas em laranja doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', em olfatômetro de 4 vias. Os valores não foram significativos com base na análise GLM Gamma com ligação log e confirmação com teste Mann-Whitney ($p < 0,05$) ($n = 30$).

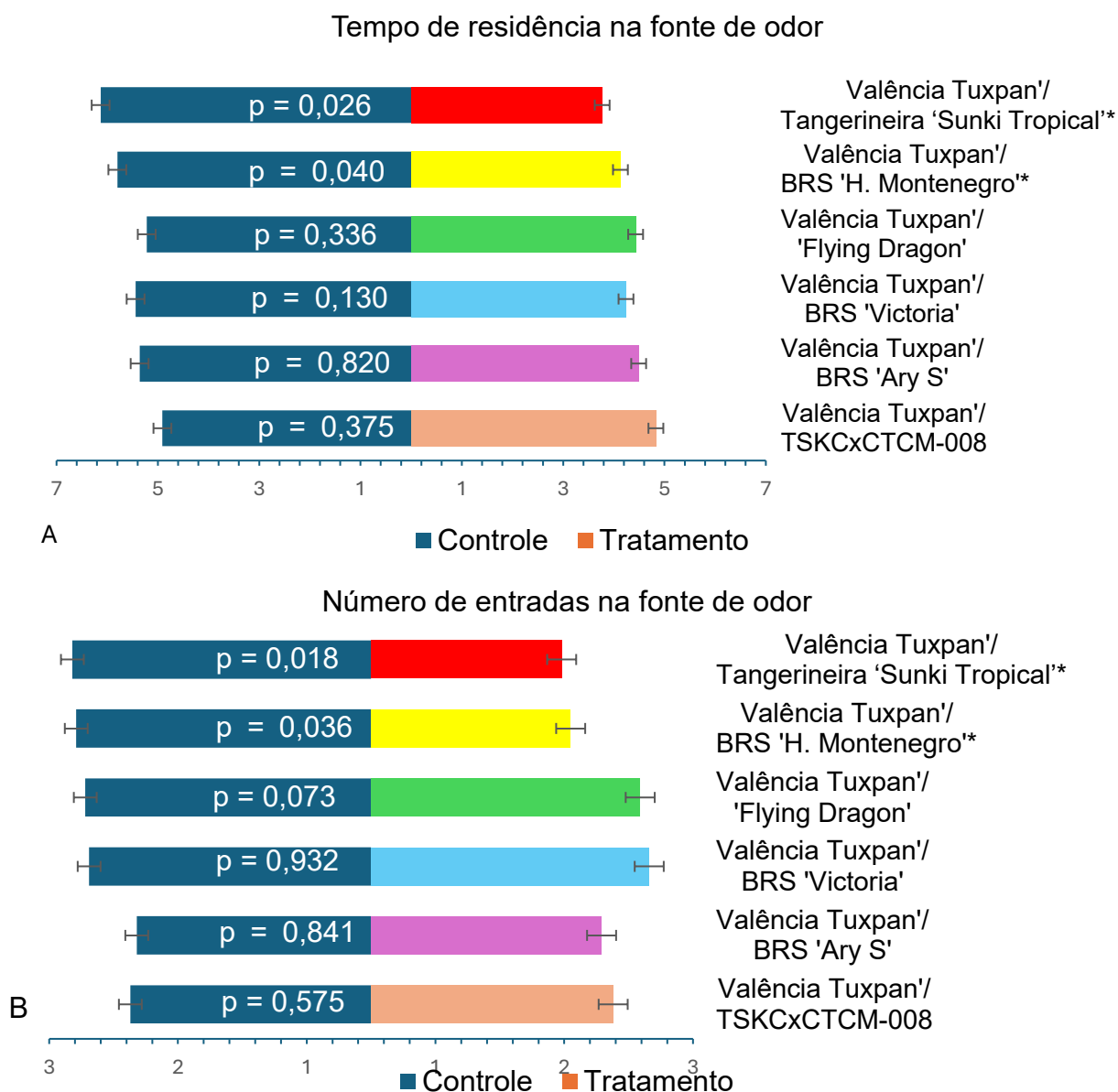


3.1.2 Bioensaios de olfatometria com *Diaphorina citri* para avaliar o efeito da copa cultivar 'Valência Tuxpan' em combinação com diferentes porta-enxertos

Comparando-se os tratamentos com o controle 'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz', observou-se redução significativa no tempo de residência (T) e no número de entradas (NE) de fêmeas de *D. citri* para a combinação 'Valência

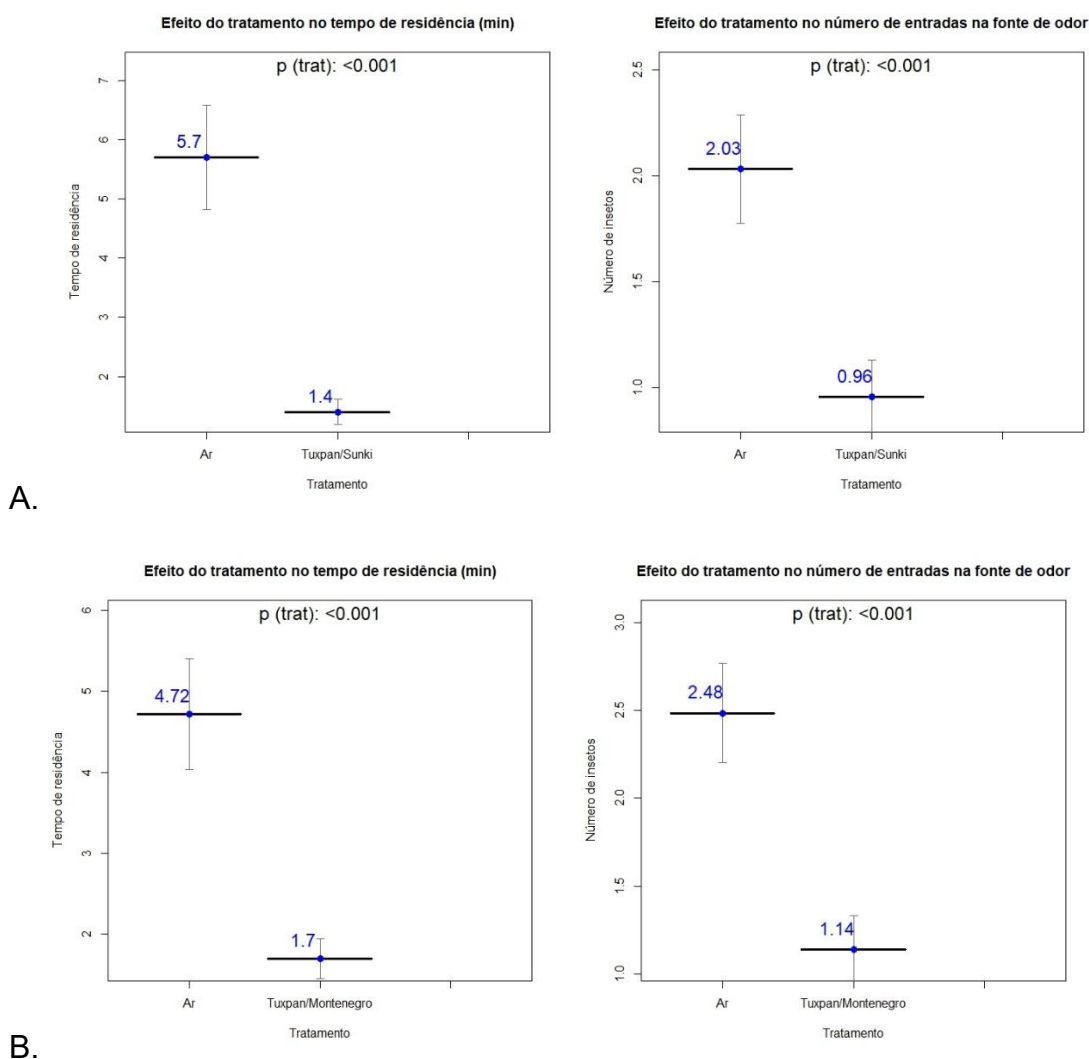
Tuxpan'/'Sunki Tropical', tanto em T ($\beta = -0,48 \pm 0,211$, $t = -2,29$, $p = 0,026$) quanto em NE ($\beta = -0,44 \pm 0,1888$, $t = -2,37$, $p = 0,018$). Um comportamento semelhante foi verificado na combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' (T: $\beta = -0,33 \pm 0,1821$, $t = -1,86$, $p = 0,040$; NE: $\beta = -0,39 \pm 0,1869$, $t = -2,10$, $p = 0,036$), avaliadas na configuração 2:2. Não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas nas demais combinações testadas (Figura 4).

Figura 4 - Tempo de residência (\pm erro padrão) (A) número de entradas (\pm erro padrão) (B) para fêmeas de *Diaphorina citri* em braços com combinações de copa de laranjeira doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e porta-enxertos testados e braços com controle ('Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'). Os tempos (min) e números de entradas foram modelados usando um modelo linear generalizado (GLM) e confirmados com teste de Mann Whitney, com significância de 5%. * Diferença significativa a 5% (n=30).



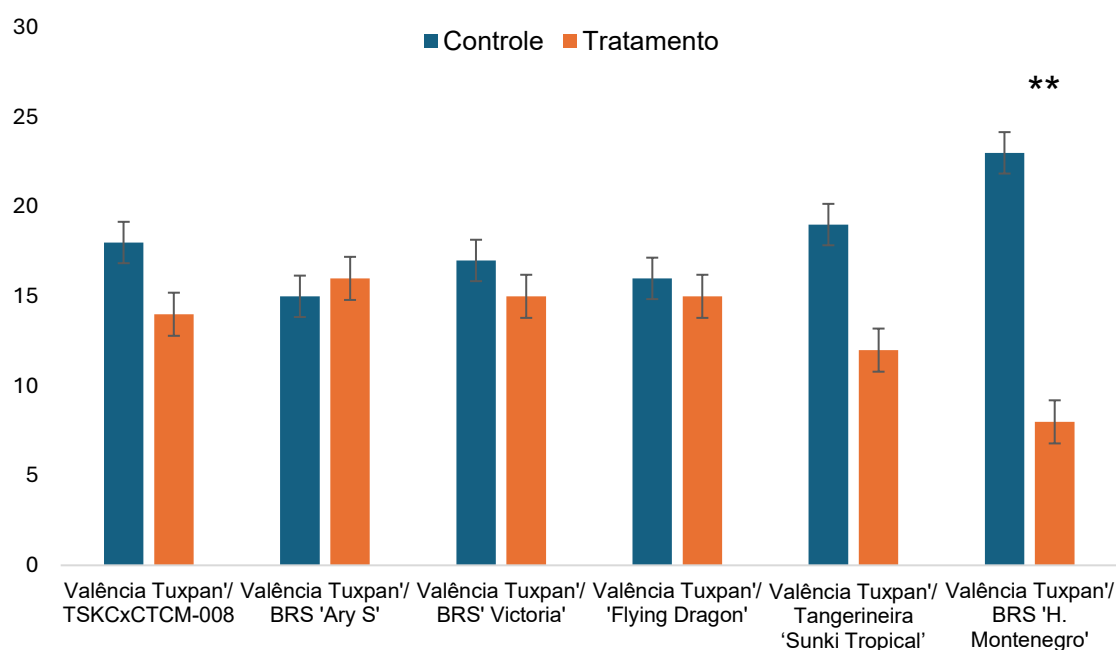
Nos ensaios de escolha confirmatória (3:1) (três plantas teste *versus* ar purificado), a magnitude dos efeitos foi intensificada. Para ‘Valência Tuxpan’/‘Sunki Tropical’, verificou-se diferença significativa para o tempo de residência ($\beta = -1,40 \pm 0,219$, $t = -6,41$, $p < 0,001$), assim como para o número de entradas ($\beta = -0,75 \pm 0,223$, $t = -3,38$, $p < 0,001$). Observou-se padrão similar em ‘Valência Tuxpan’/BRS ‘H. Montenegro’ para T ($\beta = -1,01 \pm 0,205$, $t = -4,98$, $p < 0,001$) e NE ($\beta = -0,77 \pm 0,203$, $t = -3,83$, $p < 0,001$) (Figura 5). Esses resultados substanciam o comportamento de não preferência para essas combinações.

Figura 5 - Efeito do tratamento no tempo médio de residência e número de entradas (\pm erro padrão) de fêmeas de *Diaphorina citri* nos braços do olfatômetro expostos ao odor de plantas ‘Valência Tuxpan’/Tangerineira ‘Sunki Tropical’ (A) e ‘Valência Tuxpan’/BRS ‘H. Montenegro’ (B) contra o ar limpo (controle), na configuração 3:1. Os tempos (min) e números de entradas foram modelados usando um modelo linear generalizado (GLM) e função de ligação Gamma e confirmados com teste de Mann Whitney, com significância de 5% ($n = 30$).



Na avaliação de primeira escolha de *D. citri*, observou-se diferença significativa apenas entre a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' e o controle ('Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'), onde o inseto exibiu preferência de 74,20% pelo controle ($p = 0,0106$) (Figura 6). Este padrão sugere potencial aplicação em estratégias de manejo *push-pull* (Yan; Zeng; Zhong, 2015), onde a menor atratividade de BRS 'H. Montenegro', em condição de infestação inicial, funcionaria como componente 'push', direcionando os insetos para plantas-armadilha para controle localizado durante infestações primárias.

Figura 6 - Primeira escolha (\pm erro padrão) de *Diaphorina citri* em bioensaios de olfatométrica com combinações de copa *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan' enxertada sobre diferentes porta-enxertos, comparadas ao controle 'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'. Os valores estão expressos em frequência. As comparações foram realizadas por meio do teste binomial exato, ao nível de 5% de significância, para 30 repetições válidas. **Indica combinação que diferiu significativamente do controle ($p < 0,05$).



3.2 Extração e análise química dos voláteis

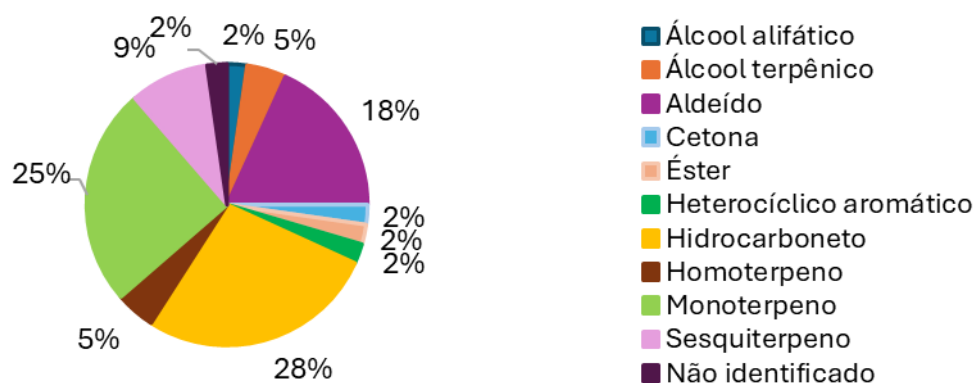
As análises químicas das amostras revelaram diferenças qualitativas e quantitativas estatisticamente significativas entre as diferentes combinações de

porta-enxertos com a copa *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' (Tabela 2). Um total de 44 compostos voláteis coletados foram identificados.

Os perfis de voláteis emitidos por plantas cítricas variam de 21 a 61 compostos diferentes, consistindo, principalmente, de monoterpenos, sesquiterpenos, aldeídos, compostos alifáticos de cadeia longa, cetonas, compostos aromáticos, voláteis de folhas verdes e compostos nitrogenados (Eduardo *et al.*, 2023; Hijaz; Nehela; Killiny, 2016; Jones; Killiny, 2021; Li *et al.*, 2024; Santos Silva *et al.*, 2023). A quantidade de compostos voláteis no gênero *Citrus* é variável e depende, entre outros fatores, da variedade e do estágio fisiológico da planta (Hijaz; El-Shesheny; Killiny, 2013; Patt *et al.*, 2014).

Nos perfis de COVs das combinações de *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' com diferentes porta-enxertos, observou-se predominância de hidrocarbonetos (28%) e monoterpenos (25%), seguidos por aldeídos (18%), sesquiterpenos (9%), homoterpenos (5%) e álcoois terpênicos (5%) (Figura 7). Especificamente, os monoterpenos destacaram-se com *D*-limoneno ($105,49 \pm 43,71$ ng/24h; 27% do total), *trans*- β -ocimeno ($37,62 \pm 14,67$ ng/24h; 10%), sabineno ($23,70 \pm 10,58$ ng/24h; 6%), 3-careno ($17,24 \pm 7,22$ ng/24h; 4%) e β -mirceno ($16,24 \pm 7,66$ ng/24h; 4%) (Tabela 2). Esse padrão reflete a importância dos monoterpenos na assinatura química da copa, alinhando-se com estudos prévios que identificaram o *D*-limoneno como o composto mais abundante em genótipos cítricos enxertados, composto-chave já reconhecido por sua influência no comportamento de *D. citri* (Eduardo *et al.*, 2023; Jones; Killiny, 2021; Silva *et al.*, 2023).

Figura 7 - Porcentagem relativa das classes de compostos orgânicos voláteis encontrados em plantas de *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertadas em sete diferentes genótipos (n = 5).



Esses dados apresentam forte convergência com estudos recentes sobre efeito do porta-enxerto na emissão de COVs. Forner-Giner *et al.* (2023) relataram a identificação de 71 compostos voláteis em tangerinas enxertadas em nove porta-enxertos, destacando o limoneno como componente predominante. De forma semelhante, Guarino *et al.* (2022) observaram variação significativa nas abundâncias de sabineno, limoneno e linalol entre diferentes combinações copa e porta-enxerto de *C. sinensis* sobre 4 porta-enxertos diferentes, confirmando que estes compostos são abundantes em espécies cítricas.

Os resultados obtidos neste trabalho reforçam que a predominância de monoterpenos e hidrocarbonetos não é apenas quantitativa, mas está diretamente associada à influência fenotípica do porta-enxerto na mistura volátil e que compostos como limoneno, sabineno e ocimeno desempenham papéis críticos na modulação do comportamento olfativo de *D. citri* (Eduardo *et al.*, 2023; Jones; Killiny, 2021; Li *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2023), oferecendo *insights* valiosos para o desenvolvimento de estratégias de manejo olfativo baseadas em seleção de porta-enxertos menos atrativos.

Em análise individual por combinação, 'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz' foi a que apresentou a menor quantidade de compostos (15 compostos), as menores concentrações e a menor diversidade (5 classes de COVs), tendo 53% de sua composição representada por hidrocarbonetos e 27% de monoterpenos, dos quais se destacaram hexadecano, heptadecano, octadecano e *D*-limoneno (Figura 8A). Em seguida, a combinação 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 apresentou 20 compostos, sete classes, sendo 45% de hidrocarbonetos e 20% de monoterpenos, com destaque para *D*-limoneno, *p*-cimeno e tetradecano (Figura 8B, Tabela 2). Sesquiterpenos, homoterpenos, cetona e éster estavam ausentes nestas combinações.

Tabela 2 - Perfil de compostos orgânicos voláteis (média ± erro padrão, em ng/24 h) emitidos por sete combinações copa e porta-enxerto de *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', obtidos por coleta em headspace dinâmico durante 24 horas (n = 5).

Compostos	KI ^{lit}	KI ^{calc}	'Valência Tuxpan'/ Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'	'Valência Tuxpan'/ 'Flying Dragon'	'Valência Tuxpan'/ BRS 'H. Montenegro'	'Valência Tuxpan'/ BRS 'Ary S'	'Valência Tuxpan'/ BRS 'Victoria'	'Valência Tuxpan'/ Tangerineira 'Sunki Tropical'	'Valência Tuxpan'/ TSKCxCTCM-008
1 (Z)-3-hexenal ^c	805	807	-	-	0,60±0,42a	-	-	1,33±0,90a	2,21±1,48a
2 Nonanog	900	900	-	-	-	-	11,98±4,84a	1,27±0,52b	2,92±2,29b
3 Heptanal ^c	899	902	-	7,90±3,13a	0,83±0,53b	-	3,36±2,44ab	-	-
4 α-pineno ⁱ	939	935	-	13,41±4,36a	2,41±1,37a	5,68±3,19a	16,36±4,97a	11,71±10,92a	-
5 Benzaldeído ^c	961	963	-	18,62±7,39a	3,57±2,12b	5,31±2,01b	24,82±8,80a	-	2,94±2,10b
6 Sabineno ⁱ	976	975	1,29±0,67a	56,45±13,11c	11,86±4,29b	29,02±16,62b	66,79±24,16c	0,48±0,25a	-
7 β-pineno ⁱ	980	979	-	6,32±1,43a	1,77±0,63b	-	0,56±0,21b	1,35±0,56b	-
8 β-mirceno ⁱ	991	990	-	37,32±8,86a	37,12±7,15a	39,27±13,73a	-	-	-
9 Decano ^g	999	999	-	4,03±1,80a	-	-	7,98±2,80a	13,26±11,42a	2,52±1,58a
10 Octanal ^c	1001	1002	-	3,65±1,92a	0,32±0,21b	-	-	1,64±1,57ab	-
11 3-careno ⁱ	1011	1009	-	31,23±8,86b	11,20±4,94b	27,51±11,90b	49,09±20,59c	1,32±0,47a	0,31±0,14a
12 p-cimeno ⁱ	1026	1025	2,94±2,29a	22,04±8,88b	4,59±2,42ab	11,55±4,37b	35,27±11,89c	2,00±1,25a	21,38±12,40ab
13 2-etil-1-hexanol ^a	1030	1029	4,90±2,27a	-	3,33±2,60a	-	6,81±5,29a	112,45±64,19b	71,41±32,73b
14 D-limoneno ⁱ	1031	1030	7,41±3,92a	20,38±7,93ab	154,79±102,47b	211,03±95,65b	294,50±164,62b	0,76±0,73a	49,56±49,56ab
15 trans-β-ocimeno ⁱ	1050	1045	1,46±0,76a	96,57±26,52b	10,51±4,30ab	19,82±8,25ab	50,43±28,28ab	81,01±79,61b	3,55±1,12a
16 γ-terpineno ⁱ	1062	1061	-	7,39±2,94a	1,37±0,89b	5,14±2,77ab	3,45±1,04ab	-	-
17 α-terpinoleno ⁱ	1088	1086	-	-	0,69±0,47a	-	2,71±1,17b	-	-
18 Undecano ^g	1100	1098	0,70±0,30	-	-	-	-	-	-
19 Linalol ^b	1099	1098	-	14,23±5,95a	5,38±0,31a	5,17±0,89a	11,01±4,42a	15,63±13,04a	11,64±4,19a
20 Nonanal ^c	1104	1104	-	5,48±2,36a	0,94±0,38a	2,28±1,85a	0,83±0,38a	3,21±3,10a	4,72±1,41a
21 DMNT ^h	1116	1112	-	15,39±8,45a	-	-	5,22±2,31a	12,03±11,77a	-

22	trans-óxido de limoneno ⁱ	1139	1140	-	-	-	-	-	0,31±0,30	-
23	Camphor ^d	1144	1150	-	-	0,27±0,22	-	-	-	-
24	1-dodeceno ^g	1192	1191	6,21±1,97a	15,02±5,50a	7,08±0,92a	9,77±1,83a	12,83±4,76a	6,97±4,32a	10,77±3,16a
25	Salicilato de metila ^e	1192	1194	-	-	0,14±0,08a	-	0,75±0,36b	-	-
26	α -terpineol ^b	1192	1197	-	-	0,02±0,01a	-	-	0,01±0,01a	-
27	Dodecano ^g	1199	1199	-	8,52±4,64c	1,61±0,11b	-	8,31±2,48c	0,06±0,05a	-
28	Decanal ^c	1204	1205	1,05±0,39a	3,20±1,15b	1,53±0,29ab	-	3,68±1,12b	-	-
29	Benzotiazol ^f	1228	1228	0,03±0,01a	0,75±0,51a	0,30±0,24a	-	0,90±0,64a	0,16±0,13a	0,16±0,12a
30	Neral ^c	1240	1238	-	-	2,09±0,91a	1,39±0,67a	-	-	-
31	Não identificado ^l		1256	-	-	40,54±22,95a	2,71±0,95b	14,17±3,08ab	1,07±0,52b	33,52±32,79a
32	Gerania ^l	1270	1267	-	-	-	5,15±2,78	-	-	-
33	Tridecano ^g	1299	1299	-	2,11±0,76a	1,21±0,08a	-	2,03±0,64a	-	-
34	1-tetradeceno ^g	1392	1391	6,38±1,47b	-	5,31±1,38b	-	3,30±1,97ab	-	1,18±0,57a
35	Tetradecano ^g	1399	1399	3,82±1,86a	15,91±5,64c	4,92±1,64a	5,55±1,56a	20,69±5,30c	2,14±0,83b	5,59±2,81a
36	β -cariofileno ^j	1428	1425	-	7,87±2,24b	12,95±6,87b	0,54±0,27a	7,09±1,35b	0,01±0,00a	-
37	Humuleno ^j	1454	1463	-	-	-	-	-	2,55±1,55	-
38	Germacreno D ^j	1481	1486	-	-	-	-	-	1,01±0,50	-
39	Pentadecano ^g	1500	1499	6,88±3,04a	4,70±1,39a	6,43±2,47a	16,26±5,26a	5,42±1,22a	0,06±0,03b	0,27±0,22b
40	α -farnesano ^j	1508	1503	-	-	-	-	-	84,26±84,13	-
41	TMTT ^{*h}	1572	1573	-	29,57±20,72a	0,08±0,06b	0,70±0,49b	0,71±0,36b	2,18±2,18b	-
42	Hexadecano ^g	1600	1599	15,60±4,14a	27,10±8,08a	13,40±5,02a	17,81±4,75a	32,56±8,01a	0,43±0,31b	0,47±0,31b
43	Heptadecano ^g	1700	1698	10,65±2,63a	9,30±1,57a	9,53±1,08a	11,92±3,01a	9,92±2,30a	0,19±0,08b	0,12±0,11b
44	Octadecano ^g	1800	1794	10,38±3,00a	10,30±2,07a	8,60±1,56a	11,41±2,11a	12,60±2,93a	0,15±0,09b	0,10±0,03b

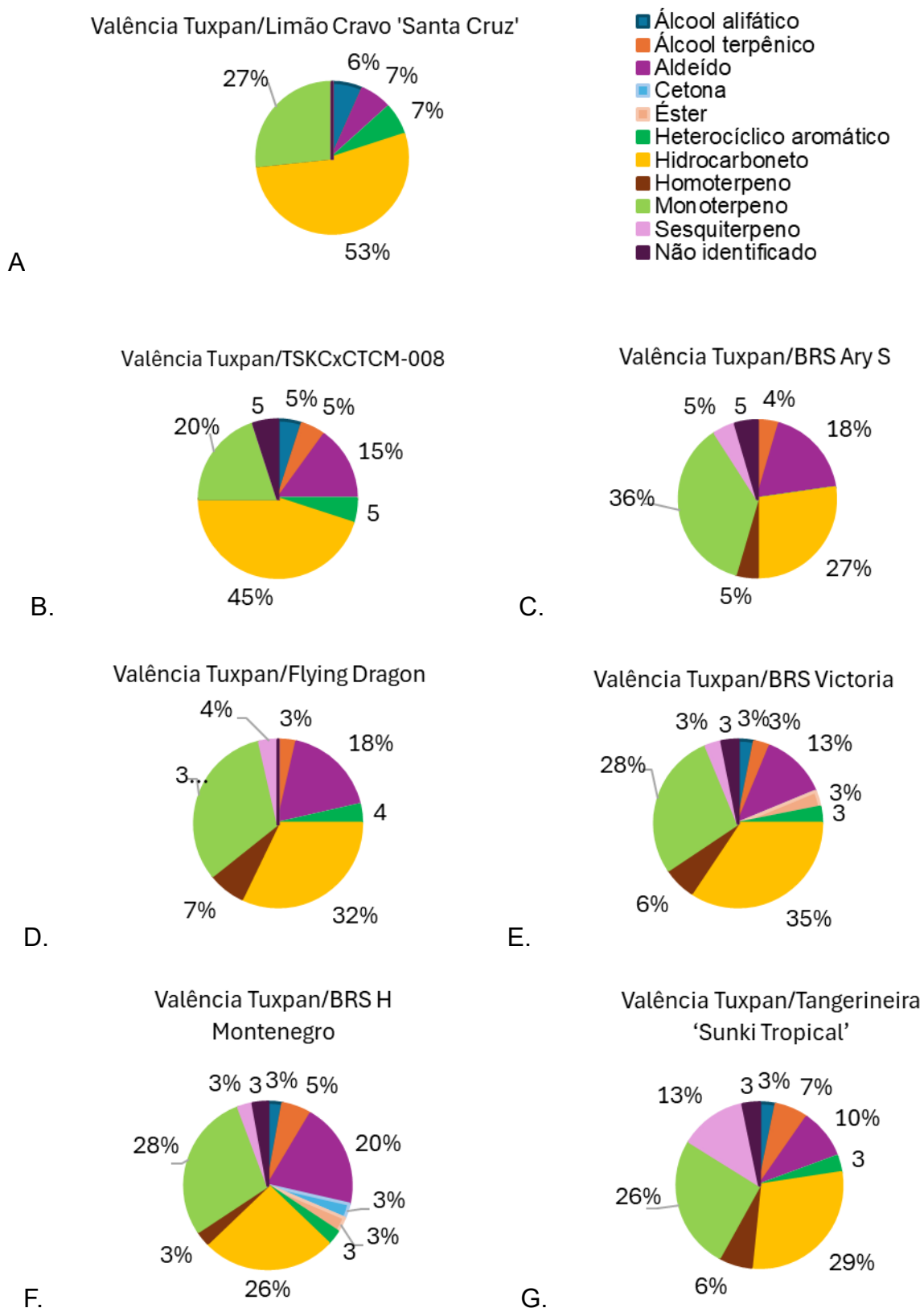
¹ Médias seguidas pela mesma letra na linha não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$).

*DMNT = (E)-4,8-dimethylnona-1,3,7-triene, TMTT = (E,E)-4,8,12-trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene.

KI^{lit}: índice de Kovats baseado na literatura (Adams, 2007); KI^{calc}: índice de Kovats calculado baseado na injeção de padrão de alcanos (C-08 a C-26).

Classes de COV: ^a Álcool alifático, ^b Álcool terpênico, ^c Aldeído, ^d Cetona, ^e Éster, ^f Heterocíclico aromático, ^g Hidrocarboneto, ^h Homoterpeno, ⁱ Monoterpeno, ^j Sesquiterpeno, ^l Não identificado.

Figura 8 - Composição dos perfis de compostos orgânicos voláteis de combinações copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em sete porta-enxerto. Os dados estão representados em proporção das classes de COVs. Os dados são representados pela média da concentração dos compostos, obtidos por coleta em *headspace* dinâmico durante 24 horas (n = 5).



A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' apresentou 22 compostos, divididos em sete classes de COVs, apresentando as maiores concentrações para *D*-limoneno, β -mirceno, sabineno, 3-careno, pentadecano e heptadecano. Destacaram-se os monoterpenos, com 36% de sua composição, seguido de hidrocarbonetos, com 27% (Figura 8C). A combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon', também apresentou sete classes de COVs, com destaque para os monoterpenos trans- β -ocimeno, γ -terpineno, sabineno, α -pineno e β -mirceno. Esta combinação apresentou, ainda, as maiores concentrações dos homoterpenos DMNT e TMTT (Tabela 2, Figura 8D).

As combinações 'Valência Tuxpan' BRS 'H. Montenegro', 'Valência Tuxpan' BRS 'Victoria' e 'Valência Tuxpan'/'Tangerineira 'Sunki Tropical' emitiram um número maior de compostos voláteis, 35, 32 e 31, respectivamente. A 'Valência Tuxpan' BRS 'Victoria' apresentou as maiores concentrações dos monoterpenos *D*-limoneno (41% de sua composição), sabineno, trans- β -ocimeno, 3-careno, *p*-cimeno, α -terpinoleno, além dos hidrocarbonetos pentadecano, heptadecano (Tabela 2, Figura 8E).

Os perfis de voláteis encontrados nas diferentes combinações avaliadas mostraram similaridade com aqueles relatados em espécies cítricas que induzem comportamento de atração em *D. citri*, caracterizado pelo deslocamento orientado em direção à fonte de estímulo químico (Alves *et al.*, 2018; Eduardo *et al.*, 2023; Killiny *et al.*, 2018; Killiny *et al.*, 2020; Roberts *et al.*, 2023). Essa similaridade pode explicar a ausência de diferenças significativas entre a maioria das combinações e o controle nos bioensaios de olfatosmetria.

Altos níveis de alguns voláteis, especialmente os monoterpenos, podem tornar as plantas cítricas mais atrativas para *D. citri*. Compostos como *D*-limoneno, 3-careno, α -pineno, β -pineno, *p*-cimeno e β -mirceno têm sido associados à atratividade à *D. citri*, conforme evidenciado em estudos de comportamento realizados em plantas de murta e plantas cítricas (Alves *et al.*, 2018; Amorós, 2019; Andrade *et al.*, 2016; Eduardo *et al.*, 2023; Killiny e Jones, 2017; Killiny *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024; Mann *et al.*, 2012; Robbins *et al.*, 2012). A sinergia entre *p*-cimeno e β -mirceno potencializam a excitação neuronal de *D. citri*, aumentando a atração ao inseto (Coutinho-Abreu *et al.*, 2014). Além disso, elevadas concentrações de β -felandreno e sabineno foram detectados em amostras de curry e de laranja doce

da variedade Valência, ambas caracterizadas como atrativas para o inseto (Robbins *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2023).

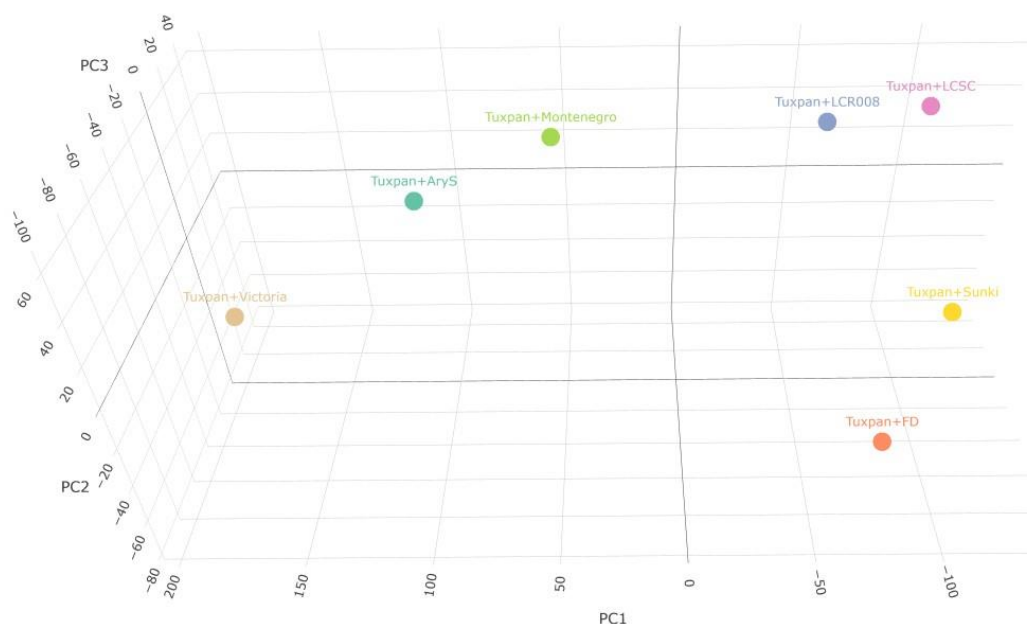
Apesar da semelhança geral entre os perfis voláteis das combinações avaliadas, diferenças marcantes na complexidade e na composição de compostos específicos permitiram distinguir duas combinações menos atraentes ao inseto nos bioensaios de olfatometria: 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical' e 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' (Figuras 4 e 6).

A análise comparativa dos perfis de voláteis revelou que a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' se destacou por apresentar uma composição diversificada, incluindo onze classes distintas de COVs, com destaque para β -cariofileno, neral e camphor – este último exclusivo desta combinação (Tabela 2, Figura 8F). De modo semelhante, a combinação 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical' exibiu um perfil de voláteis complexo, com elevada proporção de sesquiterpenos (13%) e a presença exclusiva de humuleno, germacreno D, (*E,E*)- α -farneseno (sesquiterpenos), além do trans-óxido de limoneno (monoterpeno). Também foram detectados os homoterpenos DMNT e TMTT, reconhecidos por suas funções de defesa química e sinalização indireta em plantas (Jones; Killiny, 2021; Killiny; Hijaz, 2016) (Tabela 2, Figura 8G).

Para discriminar o efeito do porta-enxerto nos perfis de compostos voláteis (COVs) da copa de *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', aplicou-se uma Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando os 44 voláteis identificados (Figura 9).

Os três primeiros componentes explicaram conjuntamente 95,6% da variância total (PC1 = 72,2%, PC2 = 12,1%, PC3 = 11,3%), confirmando que a maior parte da variação entre os genótipos está bem representada em um gráfico tridimensional. No biplot, as combinações 'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz' e 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 se agruparam no quadrante superior direito, associadas a compostos como trans- β -ocimeno, e aos hidrocarbonetos 1-dodeceno, tetradecano, pentadecano e hexadecano. Já a combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' isolou-se no quadrante inferior direito, influenciada por trans- β -ocimeno (maior concentração: $96,57 \pm 26,52$ ng/24h) e pelos homoterpenos DMNT e TMTT.

Figura 9 - Distribuição das diferentes combinações da copa 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos no espaço tridimensional da análise de compostos principais (ACP), considerando as médias das concentrações relativas (ng/24h) dos 44 compostos orgânicos voláteis emitidos pelas folhas.



Abreviações: 'Valência Tuxpan'/ Limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (Tuxpan+LCSC), 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 (Tuxpan+LCR008), 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' (Tuxpan+AryS), 'Valência Tuxpan'/Flying Dragon' (Tuxpan+FD), 'Valência Tuxpan'/ BRS 'H Montenegro' (Tuxpan+Montenegro), 'Valência Tuxpan'/ BRS 'Victoria' (Tuxpan+Victoria), 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'(Tuxpan+Sunki).

As combinações 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' e 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria' formaram um agrupamento no quadrante central esquerdo, fortemente determinado por *D*-limoneno, 3-careno e *p*-cimeno, enquanto as combinações 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' e 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical' se destacaram em quadrantes distintos, indicando perfis voláteis significativamente distintos, com a presença de compostos exclusivos (Figura 9).

A identificação de agrupamentos distintos confirma que a escolha do porta-enxerto não apenas altera a riqueza química total, mas sobretudo a identidade e proporção específica de compostos voláteis liberados, o que pode impactar diretamente na atratividade ou repulsão exercida sobre o psíldeo (Forner-Giner *et al.*, 2023).

Estudos prévios corroboram esse efeito modulador na emissão de COVs pelos porta-enxertos. Raddatz-Mota *et al.* (2019), estudando combinações de copa de limeira da Pérsia (*Citrus latifolia* Tanaka) com quatro porta-enxertos diferentes, observaram que β -mirreno foi produzido pela copa apenas quando enxertada sobre laranjeira azeda. Além disso, o porta-enxerto C-35 induziu maior emissão de aldeídos do que os demais porta-enxertos. O porta-enxerto laranjeira azeda, em estudo com a copa híbrida Pomelo \times Toranja, também produziu monoterpenos e sesquiterpenos em concentrações mais elevadas do que os porta-enxertos Volkameriano e *Citrus macrophylla* Wester (Benjamin; Tietel; Porat, 2013).

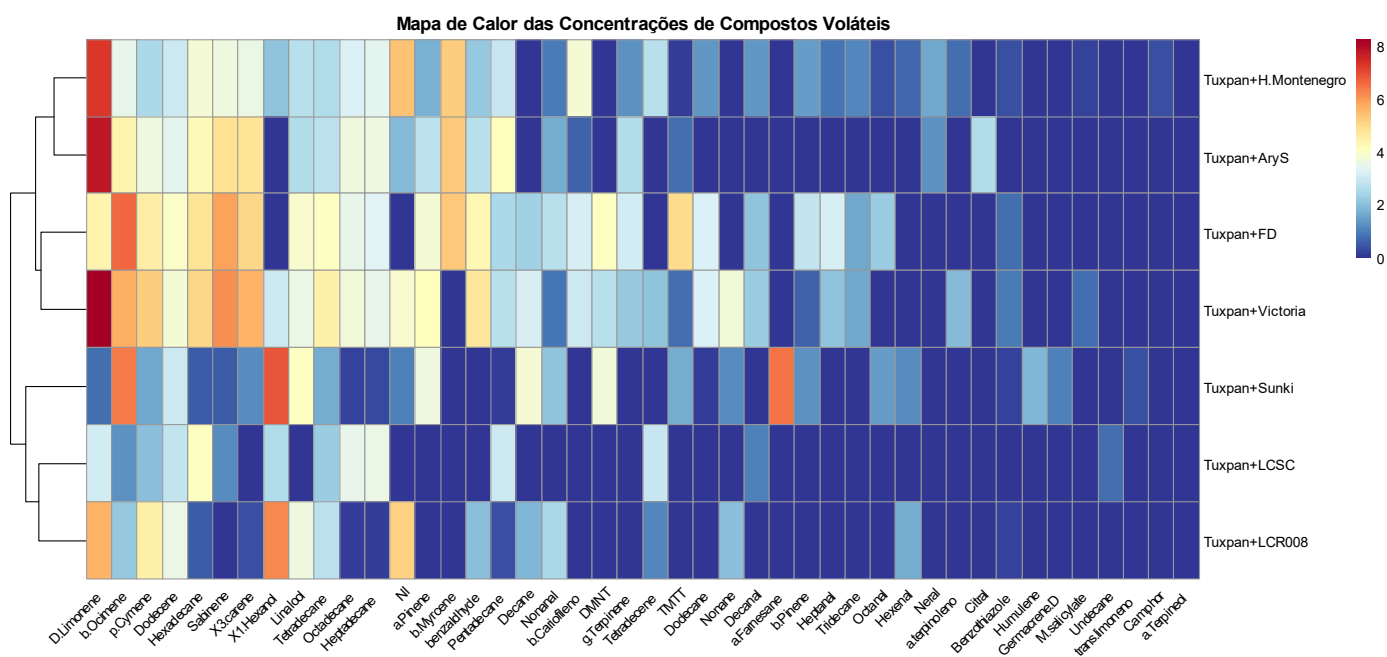
A alteração no metabolismo da copa, induzida pela influência do porta-enxerto e resultando na emissão de voláteis menos atraentes ou repelentes constitui também um importante componente no manejo da praga. Isto porque a variabilidade na composição dos voláteis em pomares cítricos torna ainda mais complexa o processo de localização e aceitação do hospedeiro (Alves *et al.*, 2018).

Essa influência do porta-enxerto também pode ser observada sob condições de estresse biótico, como a infestação pelo psilídeo ou a infecção por *Ca. Liberibacter asiaticus* (CLas). Por exemplo, porta-enxertos como US-897 e laranjeira azeda promoveram um aumento na produção de monoterpenos e álcoois terpênicos após a infestação pelo psilídeo, potencializando mecanismos de defesa direta (Albrecht; Tripathi; Bowman, 2020; Jones; Killiny, 2021). Paralelamente, porta-enxertos como US-897 e US-1688 redirecionam o metabolismo da copa para a síntese de COVs de defesa, associados à tolerância ao estresse promovido pela bactéria CLas (Bowman; Albrecht, 2020). Em contraste, porta-enxertos suscetíveis, como Carrizo, exibiram menor diversidade e reduzida concentração de compostos defensivos, o que pode comprometer respostas defensivas, aumentando a vulnerabilidade ao HLB (Stover *et al.*, 2018).

Apesar da clara formação de agrupamentos na ACP, essa abordagem estatística não foi suficiente para discriminar os genótipos com base nos diferentes níveis de resposta de *D. citri* observados nos ensaios de olfatométrica. Essa limitação pode estar associada ao fato de que a ACP, enquanto técnica exploratória multivariada, resume a variância total dos dados sem considerar diretamente as variáveis-resposta biológicas (Bruce; Pickett, 2011; Hongyu; Sandanielo; Junior, 2016; Signoretti, 2014).

Da mesma forma, a análise de agrupamento hierárquico (HCA) não refletiu a resposta dos insetos nos bioensaios de olfatosmetria. Curiosamente, a HCA evidenciou que os agrupamentos foram formados claramente a partir da genealogia dos porta-enxertos. Por exemplo, a combinação com o híbrido TSKCxCTCM-008, resultante do cruzamento entre *Citrus sunki hort. ex Tanaka* e citrange ‘Coleman’ (*C. sinensis* × *P. trifoliata*), agrupou-se com a tangerineira ‘Sunki Tropical’ (*C. sunki*), evidenciando sua origem comum. De forma semelhante, o genótipo BRS ‘Victoria’, derivado de *C. sinensis* cv. ‘Pera’ × citrange Yuma (*C. sinensis* × *P. trifoliata*), agrupou-se com ‘Flying Dragon’ (*P. trifoliata*), enquanto ‘Valência Tuxpan’/BRS ‘H. Montenegro’ (Limoeiro ‘Cravo’ × *P. trifoliata*) mostrou-se intimamente relacionado com BRS ‘Ary S’ (Limoeiro ‘Cravo’ x Limoeiro Volkameriano) (Figura 10).

Figura 10 - Análise de agrupamento hierárquico (AHC) e mapa de calor usando a distância de Brays-Curtis, a partir da concentração relativa (ng/24h) dos 44 compostos voláteis de diferentes combinações da copa *C. sinensis* cv. ‘Valência Tuxpan’ em sete diferentes porta-enxertos (n = 5). Os compostos foram agrupados por concentração, sendo o mais concentrado à esquerda. As células foram coloridas com base nas concentrações, onde vermelho representa muito concentrado e azul pouco concentrado.



Abreviações: ‘Valência Tuxpan’/ Limoeiro ‘Cravo Santa Cruz’ (Tuxpan+LCSC), ‘Valência Tuxpan’/TSKCxCTCM-008 (Tuxpan+LCR008), ‘Valência Tuxpan’/BRS ‘Ary S.’ (Tuxpan+AryS), ‘Valência Tuxpan’/‘Flying Dragon’ (Tuxpan+FD), ‘Valência Tuxpan’/ BRS ‘H. Montenegro’ (Tuxpan+H.Montenegro), ‘Valência Tuxpan’/ BRS ‘Victoria’ (Tuxpan+Victoria), ‘Valência Tuxpan’/Tangerineira ‘Sunki Tropical’ (Tuxpan+Sunki).

Outro estudo também observou que os híbridos gerados a partir de *Citrus latipes* e *Citrus maxima* herdaram compostos dos pais, revelando diferenças de perfil de compostos entre os híbridos e que eles herdavam mais compostos de um pai do que outro, sendo agrupados por similaridade de parentesco em análise de HCA (Killiny *et al.*, 2020).

Ambas as análises de PCA e HCA mostraram que os perfis de voláteis diferem em relação ao porta-enxerto utilizado e que os agrupamentos não são diretamente relacionados ao comportamento do inseto. Isto porque as plantas emitem uma gama de compostos voláteis na atmosfera e, tanto a quantidade quanto a qualidade de uma mistura de voláteis são importantes para a identificação de seus hospedeiros pelo inseto vetor (Magalhães *et al.*, 2018). Assim, mesmo compostos com grande influência na variância total podem não ser os principais determinantes do comportamento do inseto isoladamente ou em combinação com outros compostos.

O porta-enxerto *P. trifoliata* é reconhecido como não favorável à colonização e como possível fonte de resistência ao psíldeo (Borgoni *et al.*, 2014; George; Lapointe, 2019; Hernández-Suárez *et al.*, 2021; Jones; Killiny, 2021). Por exemplo, Jones e Killiny (2021) observaram que genótipos como *P. trifoliata* aumentam a síntese de sesquiterpenos em copas de tangerineira, elevando a repelência à *D. citri* em até 60%. Curiosamente, a combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' não apresentou o mesmo comportamento nos bioensaios de olfatométrica realizados neste estudo, mesmo tendo uma emissão diferenciada de trans- β -ocimeno e homoterpenos (DMNT/TMTT).

A emissão de COVs pela copa de *Citrus*, incluindo aqueles ligados à defesa contra *D. citri*, é amplamente modulada por fatores edafoclimáticos, como pH do solo, disponibilidade hídrica, microclima e composição do solo (Efendi *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2024; Hu *et al.*, 2025). Genótipos de *C. sinensis* cultivados em ambientes tropicais (Bahia) e mediterrâneos (Córsega) apresentam variações significativas na composição dos compostos foliares, com maior concentração de monoterpenos como limoneno em regiões tropicais e predomínio de compostos oxigenados (geranial, neral) em regiões temperadas (Luro *et al.*, 2020).

Neste contexto, a ausência de repelência observada para o genótipo 'Flying Dragon' em combinação com 'Valência Tuxpan' na Bahia, em contraste com os efeitos relatados em outras regiões, pode ser atribuída à modulação edafoclimática

do perfil de voláteis emitido pela copa das plantas. Esses achados reforçam a necessidade de considerar o contexto ambiental na avaliação da eficácia de genótipos resistentes ao vetor do HLB.

A divergência entre riqueza química e comportamento de escolha do inseto encontrada entre as combinações “Valência Tuxpan/BRS ‘Victoria’ versus ‘Valência Tuxpan’/BRS ‘H. Montenegro’ e ‘Valência Tuxpan’/‘Sunki Tropical’ sugere que não apenas a quantidade, mas a qualidade e a identidade funcional dos compostos são centrais para a comunicação planta-inseto. Compostos como camphor, neral, humuleno, germacreno D, DMNT e TMTT, identificados nas combinações menos preferidas, são frequentemente associados a respostas de recusa ou de alarme em insetos fitófagos (Fancelli *et al.*, 2018; Killiny *et al.*, 2020; Mann *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2023).

Em estudo sobre desenvolvimento de híbridos de citros, os genótipos que apresentaram neral e germacreno D em sua composição revelaram fortes efeitos repelentes para *D. citri* quando comparados a genótipos que não continham esses compostos em seu perfil de voláteis (Killiny *et al.*, 2020). Esse padrão corrobora com os resultados obtidos no presente trabalho, nos quais as combinações que apresentaram tais compostos foram menos preferidas pelo inseto, indicando uma possível interrupção da orientação química do inseto.

Misturas de (*E*)-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno (DMNT) e (*E,E*)-4,8,12-trimetiltrideca-1,3,7,11-tetraeno (TMTT), emitidos por *Anacardium occidentale* L. tornaram as plantas de murta (*M. paniculata*) e citros (*C. sinensis*) menos atraentes para *D. citri*, sugerindo uma ação de interferência desses compostos na atratividade dos hospedeiros à *D. citri* (Fancelli *et al.*, 2018). Esses compostos também foram associados à indução de defesa direta e defesa indireta, com a atração de vespas parasitoides de ninfas de *D. citri*, a *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) (Li *et al.*, 2017; Ling *et al.*, 2022).

Entre os voláteis identificados, o camphor ((+)-2-bornanona) emergiu como um composto funcionalmente relevante, pois apresentou alta concentração em plantas tradicionalmente usadas como inseticidas naturais, como *Artemisia argyi* H. Lév. & Vaniot e *Artemisia abrotanum* L. (Wang *et al.*, 2018). O camphor emitido por plantas de alecrim, também foi associado ao efeito de repelência para pulgões (*Aphis fabae*) quando cultivadas como planta não hospedeira em sistema *push-pull*

(Makhlouf *et al.*, 2024; Nottingham *et al.*, 1991). Esses resultados reforçam seu papel ecológico como semioquímico de defesa.

Os voláteis β -elemeno e (*E-E*)- α -farneseno foram sugeridos como repelentes para *D. citri*, pois foi observado que estes voláteis foram encontrados nos genótipos *C. reticulata* L. x *C. sinensis* L. (tangor) 'Murcott' e *P. trifoliata* 'Rubidoux', os quais foram os menos preferidos para *D. citri* (Alves *et al.*, 2018; Andrade *et al.*, 2016).

Os mecanismos de resistência das plantas cítricas a insetos, especialmente *D. citri*, são significativamente influenciados pelos COVs. Estes compostos, que podem ser constitutivos ou induzidos, desempenham importante papel nos mecanismos de resistência das plantas, seja por antixenose, antibiose ou tolerância. No caso de compostos atuantes por mecanismos de antixenose, podem atuar diretamente como dissuasor das pragas, a exemplo de β -cariofileno, DMNT e TMTT, relacionados a respostas de não preferência do inseto (Fancelli *et al.*, 2018; Ling *et al.*, 2022; Niu; Xu; Lin, 2024). Podem também agir indiretamente mediante atração de inimigos naturais por meio de emissão de terpenóides como α -pineno e β -mirceno, auxiliando assim no controle de pragas (Cabedo-López *et al.*, 2019; Niu; Xu; Lin, 2024).

No presente trabalho, constatou-se que a combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical', caracterizada pela maior concentração de sesquiterpenos, exibiu efeito dissuasor a *D. citri*, sugerindo que seu perfil diversificado, com destaque para α -farneseno, β -cariofileno e germacreno D, pode conferir maior resistência ao inseto. Esses resultados convergem para o que foi observado em outras investigações sobre o impacto do porta-enxerto no perfil de voláteis de cítricos. Em estudos anteriores sobre a influência do porta-enxerto em copa de tangerineira 'Sugar Belle', constatou-se que porta-enxertos com capacidade de induzir maior produção de sesquiterpenos podem aumentar o efeito repelente sobre *D. citri* (Jones; Killiny, 2021). Paralelamente, Guarino *et al.* (2022) reportaram que sesquiterpenos, especialmente α -farneseno, inibiram a colonização de *Aphis gossypii* Glover, 1877 (vetor do vírus da tristeza) em *C. sinensis* mediante mecanismos de defesa direta (desestabilização de receptores olfativos de insetos, dificultando a localização do hospedeiro) e defesa indireta (atração de inimigos naturais).

Os sesquiterpenos são moléculas produzidas pelas plantas como parte de sua defesa química contra herbívoros e patógenos e sua eficácia não reside apenas em compostos isolados, mas em misturas sinérgicas. No presente estudo, a combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' emitiu um *blend* único de sesquiterpenos, o que pode ter potencializado a resposta repelente do inseto.

Já a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' apresentou o *blend* mais diversificado dos genótipos analisados, com compostos relatados com função de repelência a insetos, como o β -cariofileno, neral e camphor. Esta diversidade química, associada à presença de compostos funcionalmente reconhecidos como mediadores de interações planta-inseto, pode estar relacionada à menor atratividade observada nos bioensaios de olfatométrie (Figuras 4 e 6). É importante destacar que o porta-enxerto BRS 'H Montenegro' é um híbrido do cruzamento Limoeiro 'Cravo' x *P. trifoliata* e, assim como outros híbridos trifoliados, apresentou possível característica de resistência por antixenose, evidenciado pela diferença significativa quanto ao tempo de residência, ao número de entradas e à primeira escolha do inseto em relação ao controle.

Portanto, as evidências aqui apresentadas reforçam a importância do perfil qualitativo de compostos voláteis e da presença de metabólitos com atividade ecológica específica na determinação do grau de atratividade de genótipos cítricos a *D. citri*, o que é particularmente relevante para o desenvolvimento de estratégias racionais de manejo, como o *push-pull* (Coutinho-Abreu *et al.*, 2014; Santos Silva *et al.*, 2023; Silva *et al.*, 2024).

Estes resultados fornecem uma base para pesquisas futuras voltadas à otimização de combinações copa-porta-enxerto e à elucidação de seus mecanismos de resistência, com o objetivo de aprofundar a compreensão dos fatores genéticos envolvidos na produção de COVs e apoiar programas de melhoramento visando o desenvolvimento de variedades cítricas menos preferidas ao inseto.

Os resultados obtidos no presente trabalho, são importantes para o desenvolvimento de estratégias de manejo integrado, associando combinações copa-porta-enxerto menos atraentes ao psilídeo em sistema de *push-pull*, controle biológico e tratamentos químicos, no aprimoramento do manejo do HLB em pomares comerciais de citros, especialmente em regiões indenes à doença.

4. CONCLUSÕES

O perfil dos compostos orgânicos voláteis emitidos pela copa de *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' é significativamente influenciado pelo genótipo do porta-enxerto, impactando diretamente a atratividade das plantas ao vetor do HLB, *D. citri*.

A variabilidade observada entre os híbridos reforça a relevância da composição e interação entre os compostos voláteis, constituído por *blends* com efeito repelente ou dissuasor sobre o psíldeo, como observado nas combinações Valência Tuxpan/BRS 'H Montenegro' e Valência Tuxpan/ Tangerineira 'Sunki Tropical', as quais se mostraram promissoras para testes futuros.

Neste sentido, a abordagem de "resistência baseada em *blend*" se mostra promissora para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de manejo do HLB, integrando o uso de genótipos menos atrativos como ferramenta preventiva.

Os compostos β -cariofileno, neral, camphor, germacreno D, α -farneseno, DMNT e TMTT estão possivelmente relacionados a mecanismos de resistência de citros a *D. citri*, sendo sugeridos como candidatos promissores para semioquímicos de repelência e biomarcadores para programas de melhoramento genético.

5. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream: Allured Business Media, 2012. 356 p.

ALBRECHT, U.; TRIPATHI, I.; BOWMAN, K. D. Rootstock influences the metabolic response to *Candidatus Liberibacter asiaticus* in grafted sweet orange trees. **Trees – Structure and Function**, v. 34, n. 2, p. 405–431, 2020.

ALBUQUERQUE, T. DE F. **Potencial de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) como planta-isca visando ao manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em citros**. Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, São Paulo, Brasil, 2020. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-01102020-163508/pt-br.php>. Acessado em 12 jan. 2025.

ALQUÉZAR, B.; CARMONA, L. BENNICI, E. PEÑA, L. Engineered Orange Ectopically Expressing the *Arabidopsis* β -Caryophyllene Synthase Is Not Attractive to *Diaphorina citri*, the Vector of the Bacterial Pathogen Associated to Huanglongbing. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 1–15, 2021.

ALVES, G. R.; BELOTI, V. H.; FAGGIONI-FLORIANO, K. M.; CARVALHO, S. A. DE; MORAL, R. DE A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; PARRA, J. R. P.; YAMAMOTO, P. T. Does the scion or rootstock of *Citrus* sp. affect the feeding and biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 77–84, 2018.

ANDRADE, M. D. S.; RIBEIRO, L. DO P.; BORGONI, P. C.; SILVA, M. F. D. G. F. DA; FORIM, M. R.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; VENDRAMIN, J. D.; MACHADO, M. A. Essential oil variation from twenty-two genotypes of *Citrus* in Brazil: chemometric approach and repellency against *Diaphorina citri* Kuwayama. **Molecules**, v. 21, n. 6, 2016.

BABIKOVA, Z.; GILBERT, L.; BRUCE, T. J. A.; DEWHIRST, S. Y.; PICKETT, J. A.; JOHNSON, D. Arbuscular mycorrhizal fungi and aphids interact by changing host plant quality and volatile emission. **Functional Ecology**, v. 28, n. 2, p. 375–385, 2014.

BALDWIN, I. T.; HALITSCHKE, R.; PASCHOLD, A.; VON DAHL, C. C.; PRESTON, C. A. Volatile signaling in plant-plant interactions: “Talking Trees” in the genomics era. **Science**, v. 314, p. 1–5, 2006.

BELASQUE JÚNIOR, J.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P. DE; BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. Controle do Huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 53–64, 2010.

BELOTI, V. H.; SANTOS, F.; ALVES, G. R.; BENTO, J. M. S.; YAMAMOTO, P. T. Curry leaf smells better than citrus to females of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, n. 5, p. 709–716, 2017.

BENJAMIN, G.; TIETEL, Z.; PORAT, R. Effects of rootstock/scion combinations on the flavor of citrus fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 47, p. 11286–11294, 2013.

BISWAS, A. P.; INSHA, R. A. N.; MAZED, M. K.; RAHMAN, M. M.; HOSSAIN, M. M. Unraveling the mechanisms of plant structural defenses against insect pests. **OnLine Journal of Biological Sciences**, Science Publications, 2024.

BORGONI, P. C.; VENDRAMIN, J. D.; LOURENÇÃO, A. L.; MACHADO, M. A. Resistance of *Citrus* and related genera to *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 5, p. 465–469, 2014.

BOWMAN, K. D.; ALBRECHT, U. Rootstock influences on health and growth following *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection in young sweet orange trees. **Agronomy**, v. 10, n. 12, 2020.

BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – finding the right mix. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1605–1611, 2011.

BURCKHARDT, D.; OUVRARD, D.; PERCY, D. M. An updated classification of the jumping plant-lice (Hemiptera: Psylloidea) integrating molecular and morphological evidence. **European Journal of Taxonomy**, v. 2021, n. 736, p. 137–182, 2021.

CABEDO-LÓPEZ, M.; CRUZ-MIRALLES, J.; VACAS, S.; NAVARRO-LLOPIS, V.; PÉREZ-HEDO, M.; FLORS, V.; JAQUES, J.A. The olfactory responses of *Tetranychus urticae* natural enemies in citrus depend on plant genotype, prey presence, and their diet specialization. **Journal of Pest Science**, v. 92, n. 3, p. 1165–1177, 2019.

CANALE, M. C.; KOMADA, K. M. A.; LOPES, J. R. S. Latency and incubation of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in citrus after vector inoculation. **Tropical Plant Pathology**, v. 45, p. 320–326, 2020.

CANUTO, K. M.; NETO, M. A. DE S.; GARRUTI, D. DOS S. Composição química volátil em diferentes estádios de maturação de manga *Tommy Atkins* produzida no Vale do São Francisco. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2377–2381, 2009.

CASTLE, W. S. A career perspective on citrus rootstocks, their development, and commercialization. **HortScience**, 2010.

CITRUSBR. **Citricultura se destaca como grande geradora de empregos em 2020**. Disponível em: <https://biodieselbrasil.com.br/citricultura-se-destaca-como-grande-geradora-de-empregos-em-2020/>. Acesso em: 17 mai. 2025.

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, 2014.

DARDOURI, T.; GOMEZ, L.; AMELINE, A.; COSTAGLIOLA, G.; SCHOENY, A.; GAUTIER, H. Non-host volatiles disturb the feeding behavior and reduce the fecundity of the green peach aphid, *Myzus persicae*. **Pest Management Science**, v. 77, n. 4, p. 1705–1713, 2021.

EDUARDO, W. I.; SILVA, A. C.; VOLPE, H. X. L.; ALQUÉZAR, B.; PEÑA, L.; MIRANDA, M. P. Push-pull and kill strategy for *Diaphorina citri* control in citrus orchards. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 171, n. 4, p. 287–299, 2023.

EFENDI, D.; BUDIARTO, R.; POERWANTO, R.; SANTOSA, E.; AGUSTA, A. Relationship among agroclimatic variables, soil and leaves nutrient status with the yield and main composition of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC) leaves essential oil. **Metabolites**, v. 11, n. 5, 2021.

FANCELLI, M.; SOUSA, M. R.; SILVA, T. S. M. DA; GIRARDI, E. A.; LAUMANN, R. A.; COELHO, M. A. SOLF System for data acquisition in olfactometry bioassays. **Citrus Research & Technology**, v. 38, n. 1, p. 1–4, 2017.

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, 2018.

FONTANA, A.; HELD, M.; FANTAYE, C. A.; TURLINGS, T. C.; DEGENHARDT, J.; GERSHENZON, J. Attractiveness of constitutive and herbivore-induced

sesquiterpene blends of maize to the parasitic wasp *Cotesia marginiventris* (Cresson). **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 6, p. 582–591, 2011.

FORNER-GINER, M. Á.; SÁNCHEZ-BRAVO, P.; HERNÁNDEZ, F.; PRIMO-CAPELLA, A.; CANO-LAMADRID, M.; LEGUA, P. Effect of rootstock on the volatile profile of mandarins. **Foods**, v. 12, n. 8, 2023.

FUNDECITRUS. **Pontos decisivos para o controle do greening**, 2021.

FUNDECITRUS. **Inventário de Árvores e Estimativa da Safra de Laranja do Cinturão Citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro – Sumário Executivo 2023/2024**, p. 1–16, 2023.

FUNDECITRUS. **Estimativa da safra de laranja 2024/25 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro – cenário em maio**, Relatório n. ISSN 2446-7715, p. 1–41, 2024.

GEORGE, J.; LAPOINTE, S. L. Host-plant resistance associated with *Poncirus trifoliata* influence oviposition, development and adult emergence of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Pest Management Science**, v. 75, n. 1, p. 279–285, 2019.

GUARINO, S.; MERCATI, F.; FATTA DEL BOSCO, S.; MOTISI, A.; ABBATE, L. Rootstocks with different tolerance grade to Citrus tristeza virus induce dissimilar volatile profile in *Citrus sinensis* and avoidance response in the vector *Aphis gossypii* Glover. **Plants**, v. 11, n. 24, 2022.

HALL, D. G.; HENT, M. G.; ADAIR, R. C. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. **Environmental Entomology**, v. 37, n. 4, p. 914–924, 2008.

HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E.; SUÁREZ-MÉNDEZ, L.; PARRILLA, M.; ARJONA-LÓPEZ, J. M.; HERVALEJO, A.; ARENAS-ARENAS, F. J. Feeding and oviposition behaviour of *Trioza erytrae* (Hemiptera: Triozidae) on different citrus rootstock material available in Europe. **Insects**, v. 12, n. 7, 2021.

HIJAZ, F.; EL-SHESHENY, I.; KILLINY, N. Herbivory by the insect *Diaphorina citri* induces greater change in citrus plant volatile profile than does infection by the bacterium, *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Plant Signaling and Behavior**, v. 8, n. 10, 2013.

HIJAZ, F.; NEHELA, Y.; KILLINY, N. Possible role of plant volatiles in tolerance against Huanglongbing in citrus. **Plant Signaling and Behavior**, v. 11, n. 3, 2016.

HOLOPAINEN, J. K. Multiple functions of inducible plant volatiles. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 11, p. 529–533, 2004.

HONGYU, K.; SANDANIELO, V. L. M.; JÚNIOR, G. J. DE O. Análise de componentes principais: resumo teórico, aplicação e interpretação. **E&S Engineering and Science**, v. 5, n. 1, p. 83–90, 2016.

HU, S.; ZHANG, A.; WU, H.; PENG, W.; LI, P.; SU, W. Analysis of volatile compounds in *Citrus grandis* from different regions in South China and the response of volatile compounds to ecological factors. **Molecules**, v. 30, n. 3, 2025.

JONES, S. E.; KILLINY, N. Influence of rootstock on the leaf volatile organic compounds of citrus scion is more pronounced after the infestation with *Diaphorina citri*. **Plants**, v. 10, n. 11, 2021.

KILLINY, N.; HIJAZ, F. Amino acids implicated in plant defense are higher in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-tolerant citrus varieties. **Plant Signaling and Behavior**, v. 11, n. 4, 2016.

KILLINY, N.; JONES, S. E.; HIJAZ, F.; KISHK, A.; SANTOS-ORTEGA, Y.; NEHELA, Y.; OMAR, A. A.; YU, Q.; GMITTER, F. G.; GROSSER, J. W.; DUTT, M. Metabolic profiling of hybrids generated from *Pummelo* and *Citrus latipes* in relation to their attraction to *Diaphorina citri*, the vector of Huanglongbing. **Metabolites**, v. 10, n. 12, p. 1–17, 2020.

KILLINY, N.; VALIM, M. F.; JONES, S. E.; HIJAZ, F. Effect of different rootstocks on the leaf metabolite profile of 'Sugar Belle' mandarin hybrid. **Plant Signaling and Behavior**, v. 13, n. 3, 2018.

KILLINY, N.; VALIM, M. F.; JONES, S. E.; OMAR, A. A.; HIJAZ, F.; GMITTER, F. G.; GROSSER, J. W. Metabolically speaking: possible reasons behind the tolerance of 'Sugar Belle' mandarin hybrid to Huanglongbing. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 116, p. 36–47, 2017.

LI, S.; CASTILLO-GONZÁLEZ, C.; YU, B.; ZHANG, X. The functions of plant small RNAs in development and in stress responses. **Plant Journal**, v. 90, n. 4, p. 654–670, 2017.

LI, Y. J.; LIU, T. A.; ZHAO, H.; HAN, Y.; LOU, B. H.; LEI, C. Y.; SONG, Y. Q.; JIANG, H. B. Repellency, toxicity, and chemical composition of plant essential oils from Myrtaceae against Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Molecules**, v. 29, n. 14, 2024.

LING, S.; RIZVI, S. A. H.; XIONG, T.; LIU, J.; GU, Y.; WANG, S.; ZENG, X. Volatile signals from guava plants prime defense signaling and increase jasmonate-dependent herbivore resistance in neighboring citrus plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

LURO, F.; NEVES, C. G.; COSTANTINO, G.; SILVA GESTEIRA, A. DA; PAOLI, M.; OLLITRAULT, P.; TOMI, F.; MICHELI, F.; GIBERNAU, M. Effect of environmental conditions on the yield of peel and composition of essential oils from citrus cultivated in Bahia (Brazil) and Corsica (France). **Agronomy**, v. 10, n. 9, 2020.

MAGALHÃES, D. M.; BORGES, M.; LAUMANN, R. A.; WOODCOCK, C. M.; WITHALL, D. M.; PICKETT, J. A.; BIRKETT, M. A.; BLASSIOLI-MORAES, M. C. Identification of volatile compounds involved in host location by *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae). **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 6, n. JUL, p. 1–12, 2018.

MAKHLOUF, L.; FAKHOURI, K. EL; KEMAL, S. A.; MAAFA, I.; MEFTAH KADMIRI, I.; BOUHSSINI, M. EL. Potential of volatile organic compounds in the management of insect pests and diseases of food legumes: a comprehensive review. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024.

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, 2012.

NAGEL SCHIRMER, W.; ELLER QUADROS, M. Compostos orgânicos voláteis biogênicos emitidos a partir de vegetação e seu papel no ozônio troposférico urbano. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, v. 5, n. 1, p. 25, 2019.

NESUMI, H.; MINH, D.; ONUKI, M.; LIEM, L. T.; KOBAYASHI, H. **Case study on spreading of greening (Huanglongbing) disease into new citrus orchards in Tan Phu Thanh Village (Chau Thanh district, Can Tho)**. 2008. Disponível em: <chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcgicfindmkaj/https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00001232.pdf>. Acessado em: 12 já. 2025.

NIU, D.; XU, L.; LIN, K. Multitrophic and multilevel interactions mediated by volatile organic compounds. **Insects**, MDPI, 2024.

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 non-host plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, 1991.

OLIVEIRA, L.; MESQUITA, P. R. R.; RODRIGUES, F. M.; BARBOSA, C. J.; FANCELLI, M.; COSTA, J. G.; SCHNADELBACH, A. S. Composition of volatiles of citrus varieties and their effects on the behavior of *Diaphorina citri*. **Research Square**. p 1-17, 2023.

PATT, J.; STOCKTON, D.; MEIKLE, W.; SÉTAMOU, M.; MAFRA-NETO, A.; ADAMCZYK, J. Innate and conditioned responses to chemosensory and visual cues in Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), vector of Huanglongbing pathogens. **Insects**, v. 5, n. 4, p. 921–941, 2014.

RADDATZ-MOTA, D.; FRANCO-MORA, O.; MENDOZA-ESPINOZA, J. A.; RODRÍGUEZ-VERÁSTEGUI, L. L.; DÍAZ DE LEÓN-SÁNCHEZ, F.; RIVERA-CABRERA, F. Effect of different rootstocks on Persian lime (*Citrus latifolia* T.) postharvest quality. **Scientia Horticulturae**, v. 257, 2019.

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, 2012.

ROBERTS, J. M.; CLUNIE, B. J.; LEATHER, S. R.; HARRIS, W. E.; POPE, T. W. Scents and sensibility: best practice in insect olfactometer bioassays. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, 2023.

SANTOS SILVA, M.; PATT, J. M.; BARBOSA, C. J.; FANCELLI, M.; MESQUITA, P. R. R.; RODRIGUES, F. M.; SCHNADELBACH, A. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) responses to plant-associated volatile organic compounds: a mini-review. **Crop Protection**, 2023.

SETIN, D. W.; ALVES DE CARVALHO, S. Recipientes e métodos de enxertia na produção de mudas de citros com porta-enxertos duplos. **Citrus Research & Technology**, p. 17–21, 2011.

SIGNORETTI, A. G. C. **Identificação de voláteis de plantas de citros com potencial para uso no manejo integrado de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)**. Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, 2020. Tese (Doutorado em Ciências). Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-10042015-095848/pt-br.php>. 2014. Acesso em 12 jan. 2025.

SILVA, I. P.; COSTA, M. G. C.; COSTA-PINTO, M. F. F.; SILVA, M. A. A.; COELHO FILHO, M. A.; FANCELLI, M. Volatile compounds in citrus in adaptation to water deficit and to herbivory by *Diaphorina citri*: how the secondary metabolism of the plant is modulated under concurrent stresses. **Plant Science**, 2024.

SKELLEY, L. H.; HOY, M. A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, v. 29, n. 1, p. 14–23, 2004.

STUCHI, E. S.; GIRARDI, E. A. Utilização de práticas culturais na citricultura frente ao Huanglongbing. **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, v. 1, 2010.

TECK, S.; FATIMAH, A.; BEATTIE, A.; KUEH J. H.; SING K. W. Influence of host plant species and flush growth stage on the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 536–543, 2011.

TEIXEIRA, D. DO C.; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANET, J. L.; COSTA, P. I. DA; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. “*Candidatus Liberibacter americanus*”, associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, n. 5, p. 1857–1862, 2005.

TOMASETO, A. F.; MARQUES, R. N.; FERERES, A.; ZANARDI, O. Z.; VOLPE, H. X. L.; ALQUÉZAR, B.; PEÑA, L.; MIRANDA, M. P. Orange jasmine as a trap crop to control *Diaphorina citri*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

VOLPE, H. X. L. et al. Behavioral responses of *Diaphorina citri* to host plant volatiles in multiple-choice olfactometers are affected in interpretable ways by effects of background colors and airflows. **PLoS ONE**, v. 15, n. 7, p. 1–17, 2020.

WANG, K.; LIAO, Y.; MENG, Y.; JIAO, X.; HUANG, W.; LIU, T. C. Y. The early, rapid, and non-destructive detection of citrus Huanglongbing (HLB) based on microscopic confocal Raman. **Food Analytical Methods**, v. 12, n. 11, p. 2500–2508, 2019.

WANG, Y.; LI, X.; JIANG, Q.; SUN, H.; JIANG, J.; CHEN, S.; GUAN, Z.; FANG, W.; CHEN, F. GC-MS analysis of the volatile constituents in the leaves of 14 Compositae plants. **Molecules**, v. 23, n. 1, 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, 2015.

YANG, K.; LLUSIÀ, J.; PREECE, C.; TAN, Y.; PEÑUELAS, J. Exchange of volatile organic compounds between the atmosphere and the soil. **Plant and Soil**, 2024.

CAPÍTULO 2

Comportamento de preferência e oviposição de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) a combinações copa-porta-enxerto de citros: implicações para o manejo do HLB

RESUMO

O manejo sustentável de pragas em citros demanda estratégias inovadoras baseadas na ecologia química planta-inseto. Este estudo identifica combinações copa e porta-enxerto de citros com efeitos comportamentais contrastantes sobre pragas-alvo: atratividade e repelência para abrigo, alimentação e oviposição, utilizando bioensaios integrados sob condições de dupla escolha e sem escolha. Sete combinações de copa e porta-enxerto foram avaliadas em três dimensões comportamentais: 1) assentamento de adultos, 2) migração, 3) oviposição, em condições de dupla escolha e sem escolha. Modelos lineares generalizados mistos (GLMM) com distribuição binomial negativa analisaram dados de contagem de insetos e ovos ($p < 0,05$), validados por parâmetros de dispersão. A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' exibiu repelência tripla: redução no assentamento de adultos, inibição de oviposição e indução de migração para as duas configurações, demonstrando possíveis mecanismos de resistência por antixenose ao inseto. Em contraste, 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' demonstrou atratividade para o adulto e estímulo à oviposição. Estes achados abrem perspectivas para uso destas combinações em programas de melhoramento genético para cruzamentos visando piramidação de genes de repelência e desenvolvimento de produtos como iscas e dissuadores do inseto com potencial fagodeterrentes e deterrentes de oviposição.

Palavras-chave: Psilídeo Asiático dos Citros, Antixenose, Ecologia Química, Preferência hospedeira.

Preference and oviposition behavior of *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) in response to citrus scion-rootstock combinations: implications for HLB management

ABSTRACT

Sustainable management of citrus pests demands innovative strategies grounded in plant-insect chemical ecology. This study identifies scion/rootstock citrus combinations exhibiting contrasting behavioral effects on target pests: specifically, attractiveness versus repellency for shelter, feeding, and oviposition. Integrated bioassays under choice and non-choice conditions were employed. Seven scion/rootstock combinations were evaluated across three behavioral dimensions: 1) adult settlement, 2) migration, and 3) oviposition, under both choice and non-choice conditions. Count data for insects and eggs were analyzed using Generalized Linear Mixed Models (GLMM) with a negative binomial distribution ($p < 0.05$), validated by dispersion parameters. The 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' combination exhibited triple repellency effects: reduced adult settlement, inhibited oviposition, and induced migration under both test configurations. This demonstrates potential antixenosis-based resistance mechanisms against the insect pest. In contrast, 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' demonstrated adult attractiveness and oviposition stimulation. These findings open perspectives for utilizing such combinations within citrus breeding programs for targeted crosses aimed at pyramiding repellency genes. They further support the development of insect management products, such as bait formulations and insect deterrents, with potential applications like feeding deterrents and oviposition deterrents.

Keywords: *Diaphorina citri*; antixenosis; chemical ecology; host preference.

1. INTRODUÇÃO

Os principais frutos de citros produzidos e consumidos no mundo pertencem ao gênero *Citrus*, compostos por laranjeiras doce, tangerineiras, limoeiros, limas, pomelos, com destaque para as laranjeiras doce *Citrus sinensis* L. Osbeck, com produção mundial de 69,8 milhões de toneladas (mt) produzidas em mais de 3,4 milhões de hectares no mundo em 2023 (FAO, 2025; Junior *et al.*, 2021). Os principais produtores mundiais de laranja são Brasil (17,6 mt), China (7,7 mt), México (4,9 mt) e Estados Unidos (2,2 mt) (FAO, 2025).

Principal desafio fitossanitário da citricultura, o Huanglongbing (HLB) é considerado a doença mais devastadora da cultura dos citros, a qual está associado a duas espécies de bactérias no território nacional: *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *C. L. americanus* (Bove, 2006; Fundecitrus, 2022). O processo de disseminação das bactérias se dá principalmente pelo inseto vetor *Diaphorina citri* Kuwayama 1908 (Hemiptera: Psyllidae).

O controle químico é o principal meio de redução da população (Parra *et al.*, 2010). Porém, o uso repetitivo de inseticidas do grupo dos piretroides sem a rotação adequada com inseticidas de outro modo de ação, levou à seleção de populações resistentes de psilídeos, o que pode justificar o rápido avanço da doença (Fundecitrus, 2023). No intuito de diminuir a alta dependência de agroquímicos, estratégias de manejo comportamental de insetos e utilização de mecanismos de resistência têm sido apontadas como interessantes alternativas de manejo da praga (Baldin; Vendramim; Lourenção, 2019; Gottwald *et al.*, 2010).

Neste sentido, o aprofundamento do conhecimento sobre as interações inseto-planta é crucial para o desenvolvimento de estratégias sustentáveis de manejo de pragas. A identificação de combinações copa e porta-enxerto promissoras contribuirá para a sustentabilidade da citricultura brasileira, em especial em regiões indenes (George; Lapointe, 2019; Laranjeira *et al.*, 2019).

A influência do porta-enxerto sobre a copa é um fator determinante na modulação de características morfológicas, fisiológicas e químicas da planta enxertada. A interação copa/porta-enxerto é conhecida por promover alterações significativas em atributos como estado nutricional, vigor vegetativo, emissão de compostos voláteis, acúmulo de metabólitos secundários e arquitetura da planta (Alves *et al.*, 2018; Eduardo *et al.*, 2022). Essas modificações, muitas vezes sutis,

podem influenciar diretamente o microambiente foliar e a qualidade do hospedeiro para insetos fitófagos, em especial aqueles que se alimentam por sucção da seiva, como *D. citri*.

Estudos da biologia de insetos, bem como do comportamento alimentar e oviposição, nas diferentes combinações de copa e porta-enxerto são importantes para programas de melhoramento de plantas, pois podem indicar características de resistência a serem incorporadas à composição genética de uma nova variedade vegetal (Vendramim; Guzzo, 2012).

Os mecanismos de defesa dos genótipos cítricos contra a colonização e oviposição de *D. citri* envolvem estratégias físicas e bioquímicas. Esses mecanismos podem ser categorizados em tipos de resistência, vias de sinalização de plantas e uso de estratégias alternativas de manejo. Resistência por antixenose foi observada para genótipo *Poncirus trifoliata* e seus híbridos (George; Lapointe, 2019; Hernández-Suárez *et al.*, 2021; Jones; Killiny, 2021; Westbrook *et al.*, 2011). Redução da fecundidade foi observada em genótipos como 'Troyer' e 'Swingle', indicando um mecanismo de resistência potencial (Alves *et al.*, 2018). Resistência por antibiose também foi reportado para plantas cítricas com redução de viabilidade de ovos e ninfas, bem como aumento no tempo de desenvolvimento ninfal (Borgoni *et al.*, 2014; George; Lapointe, 2019; Rao *et al.*, 2012).

Desse modo, objetivou-se determinar o comportamento de seleção para abrigo, alimentação e oviposição de *D. citri* na copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertada em sete porta-enxertos de citros selecionadas pelo Programa de Melhoramento Genético de Citros, em condições com e sem escolha e suas implicações para o manejo sustentável do HLB, especialmente em regiões indenés.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, período e outras informações gerais do (s) experimento (s)

Os bioensaios de preferência para abrigo e oviposição foram realizados nos laboratórios e telados da Embrapa Mandioca e Fruticultura (12°40'29.9"S; 39°06'9.9"W), localizado no município de Cruz das Almas-BA.

2.2 Obtenção dos insetos

Adultos de *D. citri* utilizados neste estudo foram provenientes da criação do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Os insetos foram criados segundo metodologia de Skelley e Hoy (2004), em plantas de murta (*Murraya paniculata* (L.) Jack), utilizando gaiolas teladas, em sala com condições ambientais controladas (temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 5\%$ e fotofase de 14L:10E). As mudas de murta foram manejadas com podas a cada 10 a 15 dias para disponibilização constante de brotações jovens para estimular a oviposição do inseto. Os insetos utilizados nos experimentos estavam com idade entre 7-15 dias após a emergência, sexualmente maduros.

2.3 Obtenção e manutenção das plantas de citros

Os genótipos de citros utilizados neste capítulo foram a copa 'Valência Tuxpan' enxertada nos porta-enxertos: Limão 'Cravo Santa Cruz', BRS 'H Montenegro', BRS 'Victoria', TSKCxCTCM-008, Tangerineira 'Sunki Tropical', BRS 'Ary S' e *Poncirus trifoliata* 'Flying Dragon'.

As plantas foram regadas três vezes por semana e a adubação feita com aplicação de adubo solúvel em água a cada 15 dias, de acordo com a recomendação para a cultura [nitrogênio ($94,3 \text{ mg L}^{-1}$), potássio ($79,7 \text{ mg L}^{-1}$), fósforo ($23,8 \text{ mg L}^{-1}$), magnésio ($5,47 \text{ mg L}^{-1}$), cálcio ($58,07 \text{ mg L}^{-1}$), ferro ($0,71 \text{ mg L}^{-1}$), cobre ($0,98 \text{ mg L}^{-1}$), zinco ($0,18 \text{ mg L}^{-1}$), manganês ($0,26 \text{ mg L}^{-1}$), boro ($0,12 \text{ mg L}^{-1}$) e molibdênio ($0,04 \text{ mg L}^{-1}$)]. O manejo de pragas foi realizado por controle manual, quando necessário, para evitar a interferência de produtos químicos nos resultados (Setin; Alves de Carvalho, 2011).

A manutenção das plantas seguiu um rigoroso controle experimental, sendo utilizadas plantas de 1, 5 a 2 anos de idade, de 40 cm a 50 cm de tamanho, com brotações jovens entre 3 e 5 cm.

2.4 Bioensaios de preferência e oviposição de *Diaphorina citri*

Testes de preferência para abrigo, alimentação e oviposição foram realizados para verificar o comportamento de *D. citri* em resposta a cada

combinação copa e porta-enxerto selecionados nas condições de escolha e sem chance de escolham, em metodologia adaptada de Borgoni *et al.* (2014).

Foram testadas as seis combinações da copa *C. sinensis* 'Valência Tuxpan' e porta-enxertos, sendo confrontadas com a combinação "Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz', considerado grupo controle, visto que esta combinação é considerada atraente ao inseto (Signoretta, 2014).

Foram utilizadas mudas de 40 a 50 cm de altura, com presença de brotos em estágios vegetativos V2 e V3, mais adequados para oviposição, sobrevivência e desenvolvimento de ninfas e emergência de adultos (Cifuentes-Arenas *et al.*, 2018), confinadas em gaiolas teladas em casa de vegetação do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura (Figura 1).

Figura 1 - Experimento de preferência e oviposição de *Diaphorina citri* em diferentes combinações de copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos. A. Mudas cítricas de 40 a 50 cm de altura, com brotos de 1 a 3 cm (destaque em vermelho). B. Gaiolas contendo plantas cítricas, sendo uma gaiola com planta tratamento vs. planta controle para teste de dupla escolha; uma gaiola somente com a planta tratamento e uma gaiola somente com planta controle para teste sem escolha.



Autor: Orly Moises São Pedro dos Santos

A infestação foi forçada, utilizando-se uma proporção de 30 insetos/planta sem distinção de sexo ou idade. Nos testes com chance de escolha, as plantas foram dispostas em pares sem contato entre si, sendo uma muda do genótipo teste colocada em posição oposta à do genótipo controle. Na condição sem chance de escolha, mudas de cada combinação foram inseridas, individualmente, na gaiola. O experimento foi conduzido em gaiolas teladas (60 × 60 × 60 cm, BugDorm,

BioQuip Products Inc.), em telado antiafídico sob condições ambientais naturais de luz, temperatura e umidade, entre 2023 e 2025.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com cinco repetições. Os insetos foram soltos no centro da gaiola e as avaliações foram realizadas 1h, 24h e 48h após a soltura, pela contagem do número de adultos em cada planta e insetos migrantes putativos, ou seja, insetos encontrados fora da planta, seja na tela ou no piso da gaiola. Em seguida, após a última avaliação, o número de ovos foi contado com o uso de microscópio estereoscópio binocular Zeiss Stemi 2000C.

2.5 Estatística

Para contagem de insetos em plantas, migrantes e ovos nos experimentos de preferência em gaiola, os dados foram modelados utilizando Modelos Lineares Generalizados (GLMs). Inicialmente, verificou-se a presença de sobredispersão por meio de um modelo de Poisson, calculando-se a razão entre a *deviance* residual e os graus de liberdade. Em caso de detecção de sobredispersão significativo ($>1,5$), foi adotado o modelo Binomial Negativo, adequado para dados de contagem com variância excessiva. Os efeitos dos tratamentos foram visualizados por meio de Boxplots comparando as distribuições entre grupos e gráficos marginais com intervalo de confiança de 95%.

Os pressupostos dos modelos foram verificados via análise gráfica de resíduos e teste de sobredispersão. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R v.4.4.3 (R Core Team, 2025).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

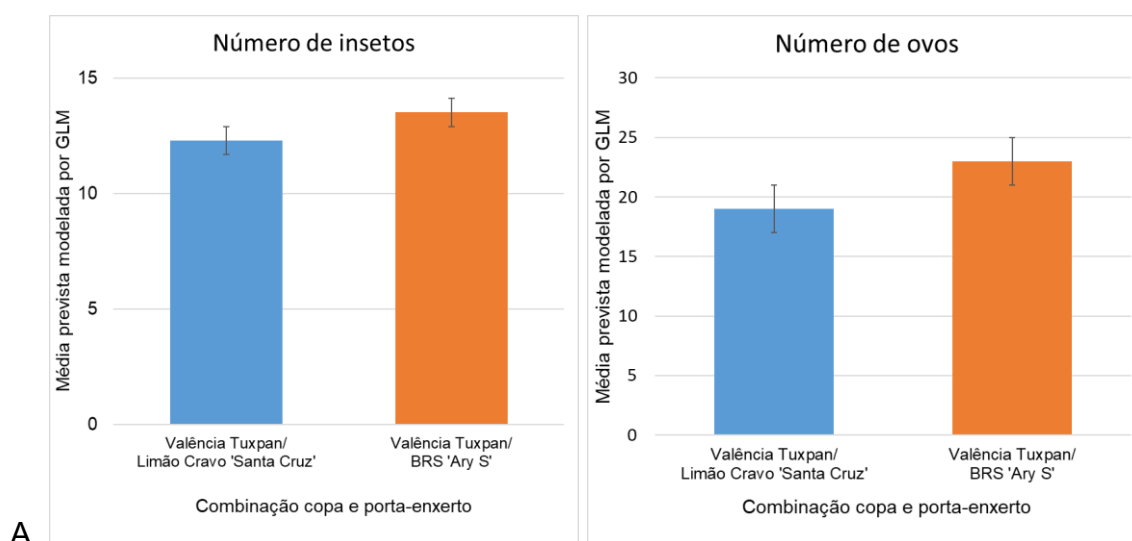
O processo de busca e aceitação do hospedeiro para alimentação e oviposição é complexo, pois é mediado por fatores como cor, disponibilidade de brotos jovens, qualidade nutricional da seiva e compostos orgânicos voláteis. Assim, o conhecimento a respeito a variabilidade de diferentes combinações copa e porta-enxerto são cruciais para o entendimento sobre a atratividade do inseto à planta e sua influência na alimentação, oviposição e desenvolvimento do inseto

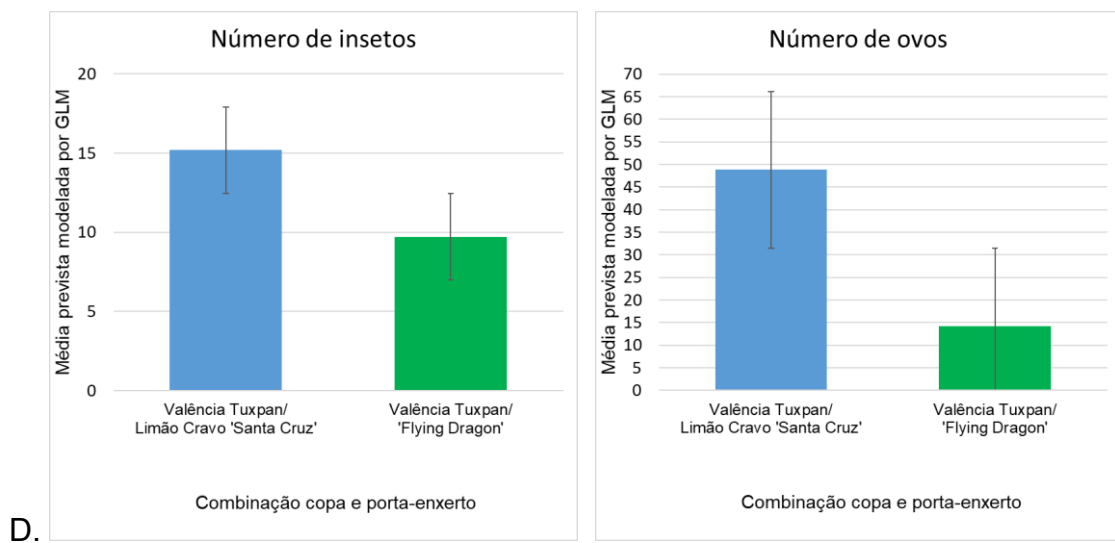
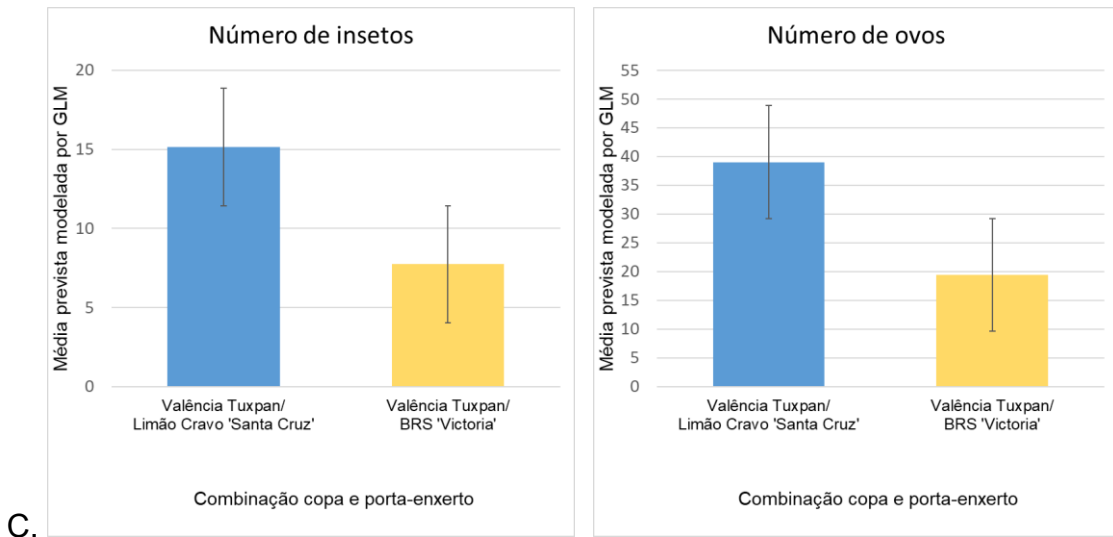
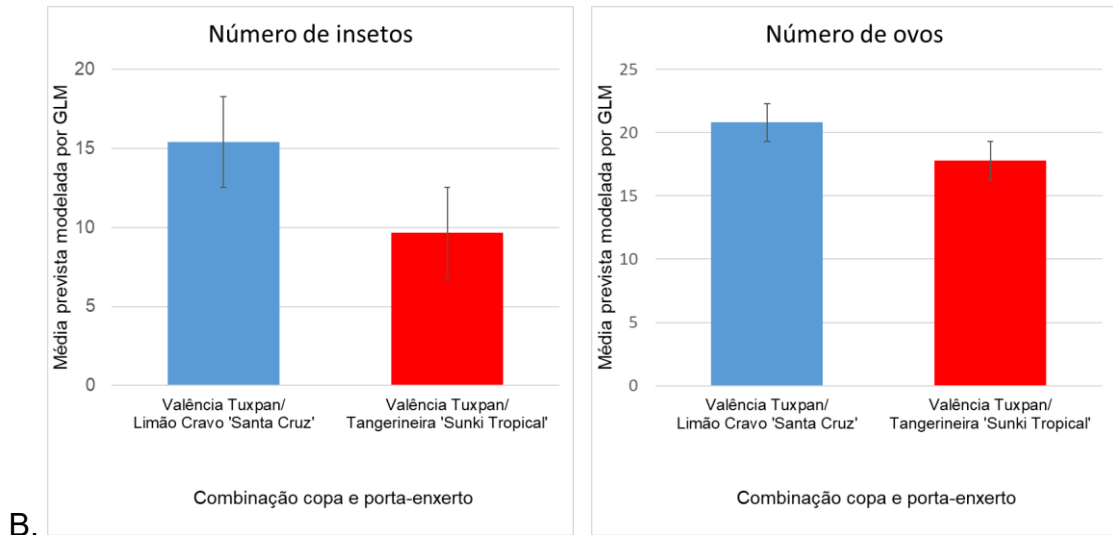
(Alves *et al.*, 2018; Pérez-Artiles *et al.*, 2017; Setamou *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2023).

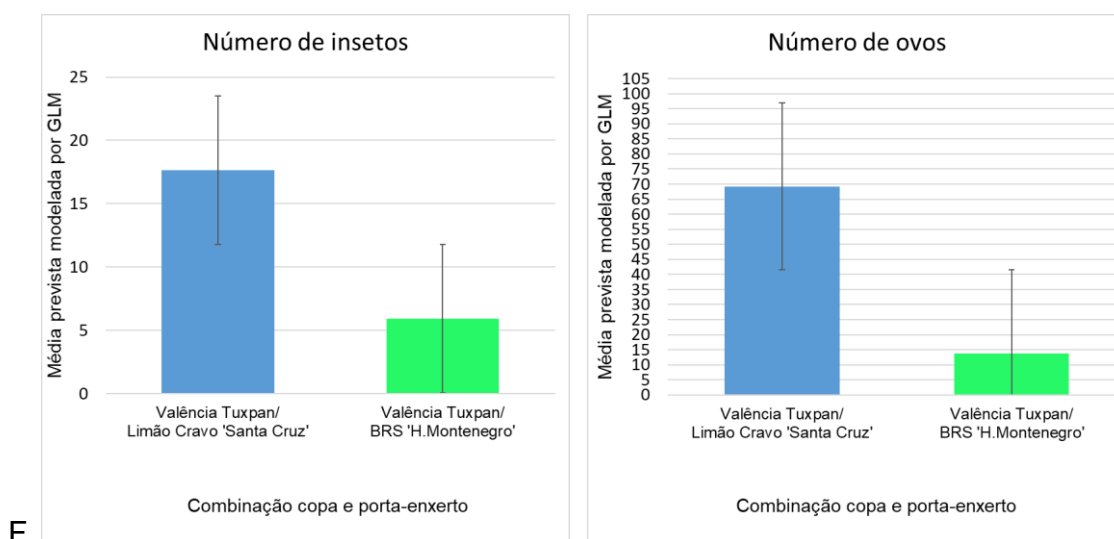
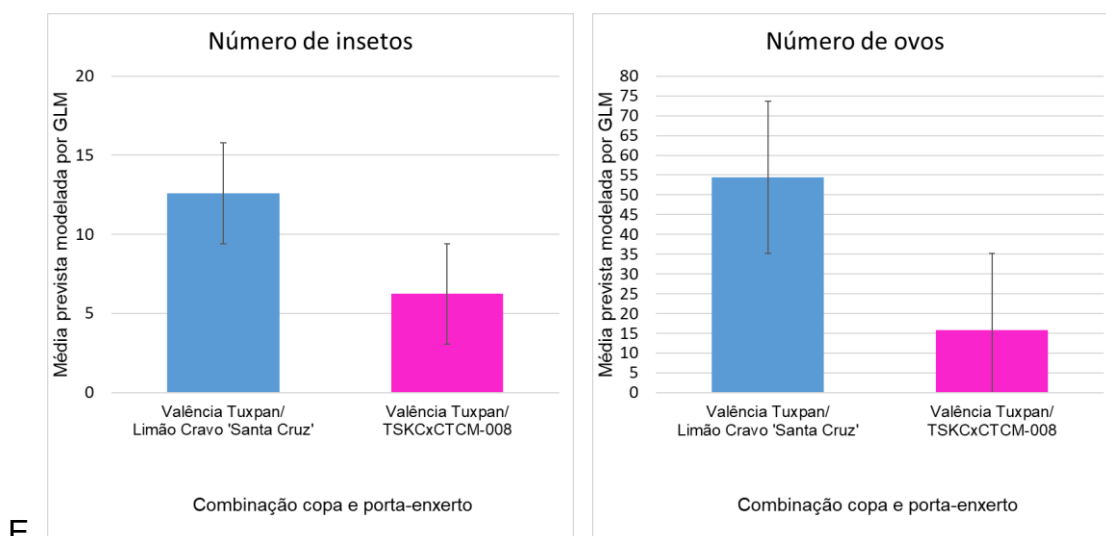
Para validar o teste de preferência e oviposição em gaiolas teladas, utilizou-se como padrão de comparação o número de insetos e o número de ovos encontrados nas plantas da combinação controle 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' em todas as repetições para os diferentes tratamentos. A homogeneidade no número de insetos (deviance= 136,13; residual = 125,85, $p = 0,54$) e de ovos (deviance = 40,43, residual = 36,71, $p = 0,96$) mostram que os adultos de *D. citri* responderam dentro do esperado para esta combinação e estavam aptos para a oviposição.

A preferência pela planta em ambiente de gaiola foi afetada em função da combinação estudada. Em análise individual do comportamento do inseto para os diferentes tratamentos, observou-se que a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' não diferiu significativamente do controle quanto ao número de adultos de *D. citri*, mantendo comportamento essencialmente neutro em relação à migração ($N_{cont.}=13,52$; $N_{trat.}=12,31$, $\beta = -0,09 \pm 0,10$, $z = -0,92$, $p = 0,35$). Também não foi observada influência dessa combinação sobre a oviposição ($N_{cont.}=19,01$; $N_{trat.}=23,01$, $\beta = 0,19 \pm 0,63$, $z = 0,30$, $p = 0,76$) (Figura 2A). Considerando o efeito similar ao controle, os resultados indicam o perfil dessa combinação como um genótipo "pull" em sistemas push-pull.

Figura 2 – Gráfico comparativo com a média (\pm erro padrão) do número de insetos e número de ovos encontrados entre combinações de copa de laranjeira doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e porta-enxertos testados e o controle ('Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz').







A combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' reduziu em 37,27% a incidência de *D. citri* em situação de dupla escolha ($N_{\text{cont.}}=15,38$; $N_{\text{trat.}}=9,65$, $\beta = -0,46 \pm 0,10$, $z = -4,35$, $p = 1.34e-05$) em relação ao controle, demonstrando sua capacidade de repelir o inseto, corroborando os dados de repelência em bioensaios de olfatométria (Capítulo 1). Contudo, para oviposição, não foram verificadas diferenças entre essa combinação e o controle ($N_{\text{cont.}}=20,80$; $N_{\text{trat.}}=17,80$, $\beta = -0,15 \pm 0,82$, $z = -0,18$, $p = 0,850$), apesar de detectada redução da postura de ovos em 14,42%. Esta característica ressalta o potencial da combinação como repelente em estratégias destinadas a reduzir o estabelecimento de adultos (Figura 2B). Importante destacar que esta combinação apresentou COVs relacionados à antixenose como os sesquiterpenos germacreno D, (*E,E*)- α -farneseno e os homoterpenos DMNT e TMTT (Capítulo 1), indicando um efeito repelente

concentrado principalmente na fase de assentamento, sem interferir negativamente no comportamento de oviposição. No entanto, Alves *et al.* (2018) relataram que a combinação 'Valência'/'Sunki' favoreceu a colonização, a oviposição e o desenvolvimento de *D. citri*. Considerando que o processo de seleção hospedeira envolve diversas fases, é fundamental que a interação entre inseto-planta seja também estudada nas etapas subsequentes ao pouso do inseto nas plantas.

A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria' reduziu o número de insetos nas plantas ($N_{\text{cont.}}=15,14$; $N_{\text{trat.}}=7,73$, $\beta = -0,67 \pm 0,11$, $z = -5,81$, $p = 6,04e-09$) e inibiu significativamente em 50,25% a postura de ovos ($N_{\text{cont.}}=39,03$; $N_{\text{trat.}}=19,42$, $\beta = -0,69 \pm 0,35$, $z = -1,97$, $p = 0,048$). Esta combinação demonstrou um perfil antixenótico tanto para insetos quanto para ovos, posicionando-o como um candidato para cruzamentos visando introdução de genes de repelência (Figura 2C).

A combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' reduziu o número de insetos em relação ao controle ($N_{\text{cont.}}=15,19$; $N_{\text{trat.}}=9,72$, $\beta = -0,44 \pm 0,10$, $z = -4,17$, $p = 0,03e-5$), e apresenta alta tendência de redução para número de ovos ($N_{\text{cont.}}=48,82$; $N_{\text{trat.}}=14,21$, $\beta = -1,23 \pm 0,653$, $z = -1,89$, $p = 0,058$). Esta combinação possui característica de *push* para esta combinação (Figura 2D).

A combinação 'Valência Tuxpan'/'TSKCxCTCM-008' também reduziu de modo significativo a incidência de insetos adultos ($N_{\text{cont.}}=12,60$; $N_{\text{trat.}}=6,24$, $\beta = -0,70 \pm 0,20$, $z = -3,36$, $p = 0,000$) e inibiu significativamente a postura de ovos ($N_{\text{cont.}}=54,43$; $N_{\text{trat.}}=15,83$, $\beta = -1,23 \pm 0,37$, $z = -3,26$, $p = 0,001$). Esta combinação apresentou perfil claro de repulsão manifestado pela redução de colonização persistente ao longo do tempo e inibição acentuada de oviposição (70,91%) (Figura 2E).

Com a maior redução (66,33%) na colonização de adultos ($N_{\text{cont.}}=17,64$; $N_{\text{trat.}}=5,94$, $\beta = -1,03 \pm 0,12$, $z = -8,72$, $p < 0,0001$) e maior efeito deterrente para oviposição com 80,03% ($N_{\text{cont.}}=69,22$; $N_{\text{trat.}}=13,82$, $\beta = -1,61 \pm 0,69$, $z = -2,33$, $p = 0,019$), a combinação 'Valência Tuxpan'/'BRS 'H. Montenegro' se destacou com um perfil bifásico de resposta à *D. citri* (Figura 2). Esta combinação também apresentou características de repelência com diferença significativa tanto no tempo de residência e número de entradas na fonte de odor, quanto em primeira escolha do inseto em relação ao controle nos ensaios de olfatosmetria relatados no capítulo 1. Esta combinação se destacou por apresentar uma composição de voláteis

diversificada, associada à presença de compostos funcionalmente reconhecidos como mediadores de interações planta-inseto, como β -cariofileno, neral e camphor (Capítulo 1) (Killiny *et al.*, 2020; Makhlouf *et al.*, 2024; Nottingham *et al.*, 1991; Niu; Xu; Lin, 2024; Wang *et al.*, 2018). Este comportamento confirma que a combinação apresenta características de antixenose ao psilídeo dos citros.

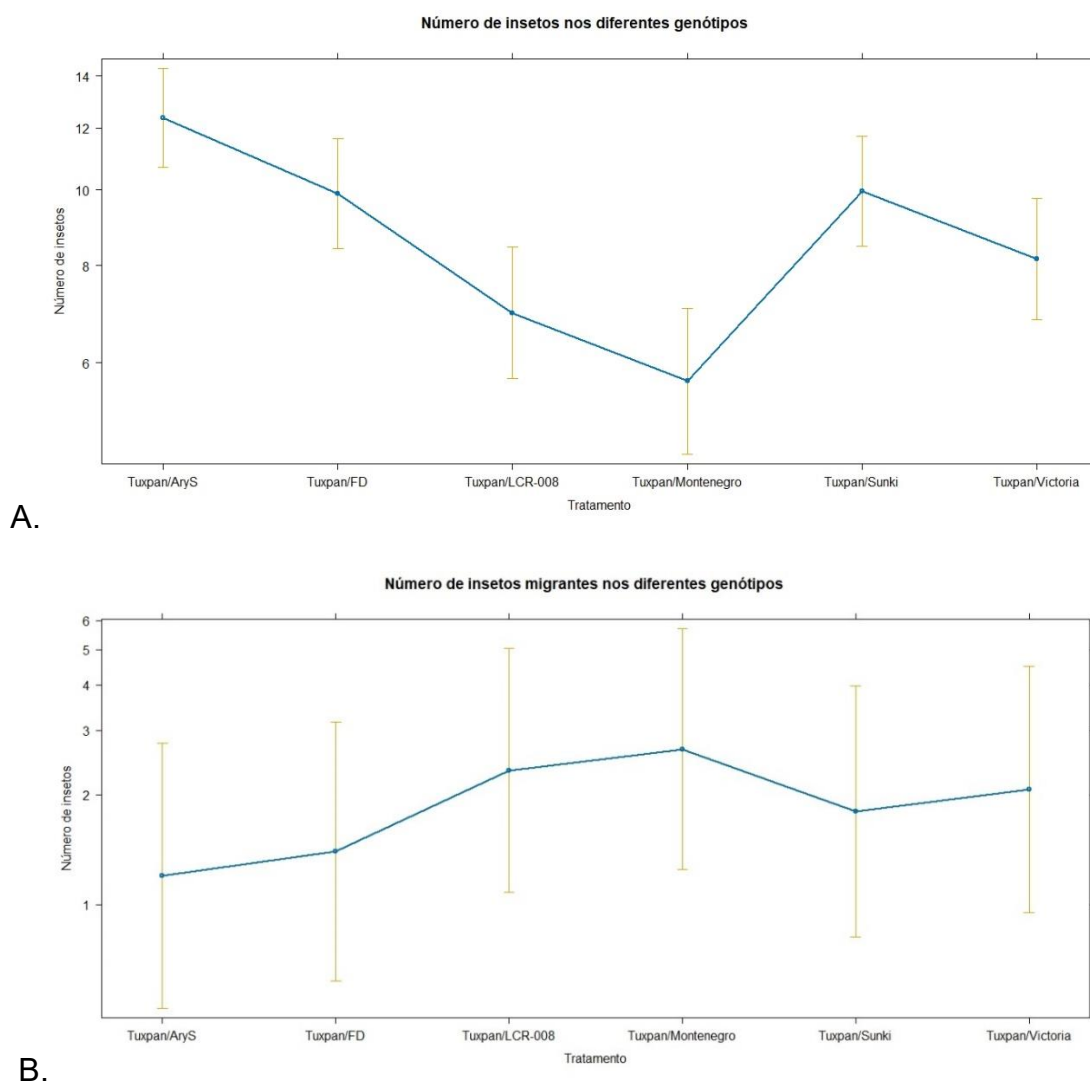
Uma análise comparativa geral entre as diferentes combinações, em condição de dupla escolha, sendo a combinação 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' como controle, mostrou que todos os tratamentos apresentaram uma redução significativa no número de insetos em relação ao controle ($p = 0,000$). As maiores reduções foram para os tratamentos 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' (54% menos insetos, $\beta = - 0,77 \pm 0,13$, $z = - 5,93$, $p = 2,99e-09$) e 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 (44% menos insetos, $\beta = - 0,57 \pm 0,12$, $z = - 4,69$, $p = 2,64e-06$). Os demais tratamentos reduziram o número de insetos entre 34% e 19% (Tabela 1, Figura 3A). Em relação aos insetos migrantes, todos os tratamentos apresentaram diferença significativa em relação ao controle. Porém, não houve nenhuma diferença significativa entre os tratamentos. A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' se destacou, com 2,2 a mais o número médio de migrantes em relação ao controle (Tabela 1, Figura 3B).

Tabela 1 - Comparação entre as combinações estudadas para número de insetos e migrantes nas combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', com suas respectivas porcentagens de redução em relação ao controle 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' em teste de preferência na condição de dupla escolha, em gaiola telada. A comparação entre os tratamentos foi realizada por modelo linear generalizado misto (GLMM), sendo a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' usada como intercepto. *representa diferença significativa ($p < 0,05$).

Tratamento	Número de insetos e % de redução	Valor de p	Migrantes e % de redução	Valor de p
'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' (intercepto)	12,33	-	1,21	-
'Valência Tuxpan'/ 'Flying Dragon'	9,86 (20,0%)	0,043*	1,41 (+16,5%)	0,799
'Valência Tuxpan'/ TSKCxCTCM-008	6,93 (43,8%)	2,64e-06**	2,34 (+93,6%)	0,238
'Valência Tuxpan'/ BRS 'H. Montenegro'	5,66 (54,0%)	2,99e-09**	2,68 (+121,2%)	0,154

'Valência Tuxpan'/ Tangerineira 'Sunki Tropical'	9,93 (19,4%)	0,049*	1,81 (+49,6%)	0,478
'Valência Tuxpan'/ BRS 'Victoria'	8,13 (34,0%)	0,000**	2,08 (+71,6%)	0,338

Figura 3 - Gráfico de efeito dos tratamentos a partir de análise de dados por modelo generalizado misto (GLMM) para o número de insetos encontrado nas plantas e número de insetos migrantes em teste de preferência na condição de dupla escolha, em gaiola telada. A. Número de insetos encontrados nas plantas. B. Número de insetos migrantes.



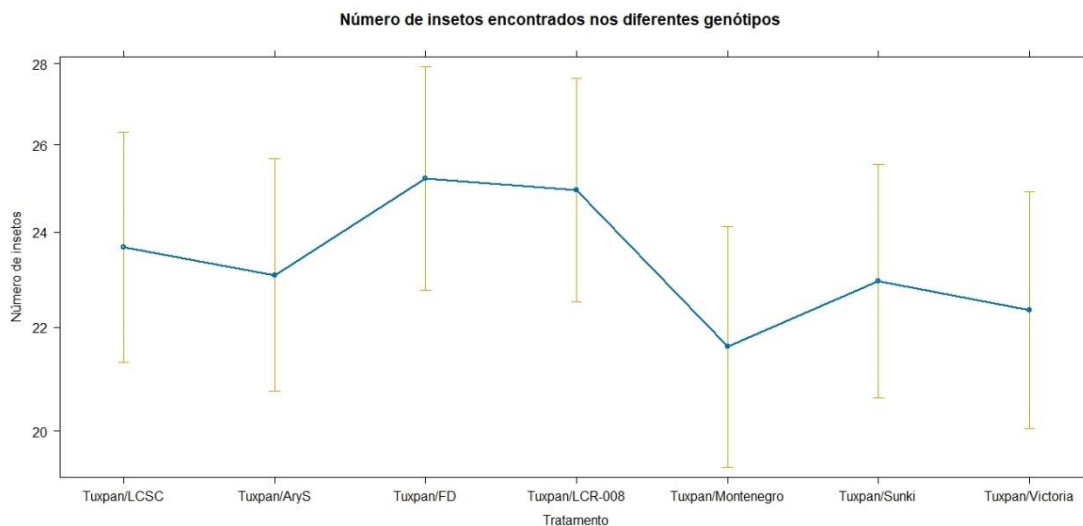
Abreviações: 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 (Tuxpan+LCR008), 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' (Tuxpan+AryS), 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' (Tuxpan+FD), 'Valência Tuxpan'/'BRS 'H Montenegro' (Tuxpan+H.Montenegro), 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria' (Tuxpan+Victoria), 'Valência Tuxpan'/'Tangerineira 'Sunki Tropical'(Tuxpan+Sunki).

Em condição sem escolha, onde o inseto teve apenas uma opção para abrigo, alimentação e oviposição, nenhum tratamento diferiu significativamente do controle, em relação ao número de insetos nas plantas e migrantes ($p = 0,074$; $p = 0,093$, respectivamente). O tratamento 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' apresentou redução de 8,73% e aumento de 52,12% em relação ao número de insetos nas plantas e migrantes, respectivamente, comparado ao controle (Tabela 2, Figura 4).

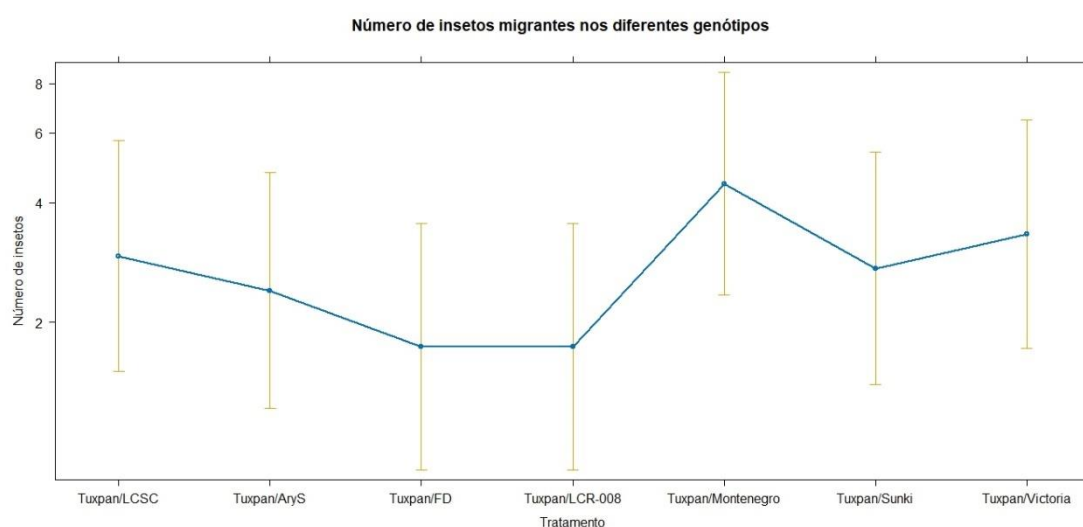
Tabela 2 - Número de insetos e migrantes de combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em seis porta-enxertos, com suas respectivas porcentagens de redução em relação ao controle 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' em teste de preferência na condição sem escolha, em gaiola telada. A comparação entre os tratamentos foi realizada por modelo linear generalizado misto (GLMM), sendo a combinação controle usada como intercepto. *representa diferença significativa ($p < 0,05$).

Tratamento	Número de insetos e % de redução	Valor de p	Migrantes e % de redução	Valor de p
'Valência Tuxpan'/ Limão 'Cravo Santa Cruz' (intercepto)	23,98	-	2,94	-
'Valência Tuxpan'/ BRS 'Ary S'	23,08 (-2.53%)	0,734	2,41 (-18.12%)	0,681
'Valência Tuxpan'/ 'Flying Dragon'	25,21 (+6.48%)	0,734	1,74 (-40.80%)	0,328
'Valência Tuxpan'/ TSKCxCTCM-008	24,95 (+5.35%)	0,482	1,74 (-40.80%)	0,328
'Valência Tuxpan'/ BRS 'H. Montenegro'	21,61 (-8.73%)	0,234	4,47 (+52.12%)	0,319
'Valência Tuxpan'/ Tangerineira 'Sunki Tropical'	22,95 (-3.10%)	0,677	2,74 (-6.80%)	0,88
'Valência Tuxpan'/ BRS 'Victoria'	22,35 (-5.63%)	0,447	3,34 (+13.59%)	0,775

Figura 4 - Gráfico de efeito dos tratamentos a partir de análise de dados por modelo generalizado misto (GLMM) para número de insetos encontrado nas plantas e número de insetos migrantes em teste de preferência na condição sem escolha, em gaiola telada. A. Número de insetos encontrados nas plantas. B. Número de insetos migrantes.



A.



B.

Abreviações: ‘Valência Tuxpan/TSKCxCTCM-008 (Tuxpan+LCR008), ‘Valência Tuxpan’/BRS ‘Ary S’ (Tuxpan+AryS), ‘Valência Tuxpan’/‘Flying Dragon’ (Tuxpan+FD), ‘Valência Tuxpan’/ BRS ‘H Montenegro’ (Tuxpan+H.Montenegro), ‘Valência Tuxpan’/ BRS ‘Victoria’ (Tuxpan+Victoria), ‘Valência Tuxpan’/Tangerineira ‘Sunki Tropical’(Tuxpan+Sunki).

As respostas comportamentais observadas para a combinação ‘Valência Tuxpan’/‘Flying Dragon’ contrastam com relatos anteriores que atribuem ao porta enxerto ‘Flying Dragon’ um papel desfavorável à colonização por *D. citri* (Borgoni *et al.*, 2014; George; Lapointe, 2019; Hernández-Suárez *et al.*, 2021; Jones; Killiny, 2021; Westbrook *et al.*, 2011).

Em condição sem escolha, 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' foi a combinação com maior número médio de insetos ($n = 25,3$) e menor número de imigrantes ($n = 1,73$) superando inclusive os valores de tratamento controle ($n = 23,6$ e $n = 2,93$, respectivamente) (Tabela 2). Esses resultados sugerem uma aceitação elevada da combinação pelo inseto em um cenário de confinamento. Nos testes de dupla escolha, embora essa combinação tenha diferido estatisticamente do controle, a redução relativa no número de insetos foi de apenas 20%, a segunda menor entre os tratamentos avaliados (Tabela 1).

Tais achados reforçam a necessidade de reavaliar o papel do porta enxerto 'Flying Dragon' no contexto da resistência comportamental a *D. citri*, especialmente quando combinado com a copa 'Valência Tuxpan' em regiões de clima quente e úmido. Ademais, os resultados aqui obtidos estão em consonância com as respostas detectadas nos bioensaios de olfatométria apresentados no capítulo 1, sugerindo que a combinação não exerce efeito de repelência significativo. Esta divergência entre a literatura prévia e os dados experimentais reforça a importância de considerar as interações específicas copa e porta-enxerto como unidades biológicas únicas, cujos efeitos sobre o comportamento do inseto podem ser emergentes e não necessariamente previsíveis com base nos componentes isolados.

Fatores como temperatura, umidade e exposição à luz solar em diferentes áreas geográficas podem afetar os processos metabólicos das plantas cítricas. Essas condições ambientais podem aumentar ou inibir a síntese de fitoquímicos específicos, levando a diferenças em suas propriedades repelentes a insetos (Fernando *et al.*, 2024). Os achados sobre a combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' sugerem que a emissão de COVs pela copa de *Citrus sinensis*, incluindo aqueles ligados à defesa contra *D. citri*, é modulada por fatores edafoclimáticos e que é necessário considerar o contexto ambiental na avaliação da eficácia de genótipos resistentes ou tolerantes ao vetor do HLB (Efendi *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2025; Luro *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2024).

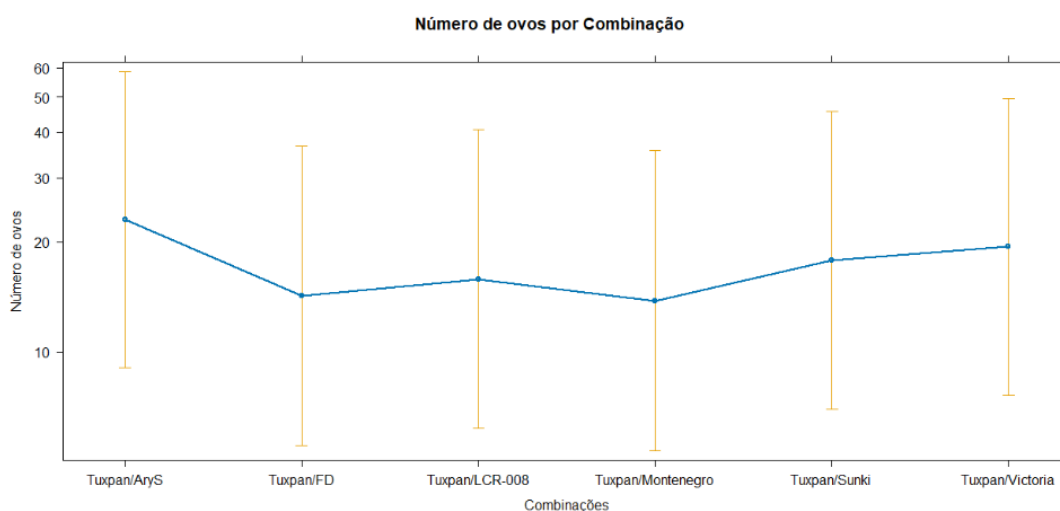
A oviposição é um processo crucial para os insetos fitófagos, pois determinará o sucesso ou não da população, cabendo à fêmea a escolha da planta hospedeira ideal. Esta decisão é mediada, no primeiro momento, principalmente, pelas pistas visuais e olfativas por meio dos voláteis liberados pelas plantas, os quais permitem que a fêmea avalie o potencial de sucesso do hospedeiro para sua

progênie (Pagadala Damodaram *et al.*, 2021). A partir do primeiro contato com a planta hospedeira, a fêmea utiliza outras informações sensoriais como estímulos táteis, a quimiorrecepção de contato, e os estímulos gustativos para a tomada de decisão final de aceitação ou não do hospedeiro para oviposição (Kamala Jayanthi *et al.*, 2012).

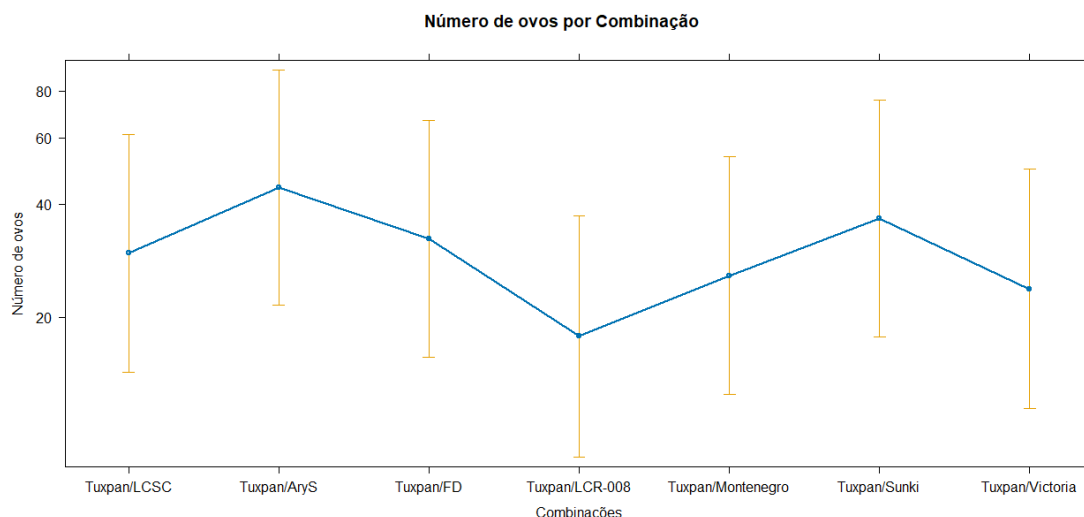
Para os testes de preferência para oviposição, todos os tratamentos apresentaram coeficientes negativos, indicando uma tendência de redução no número médio de ovos em relação ao controle, na condição de dupla escolha. A maior redução foi observada para a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro', com 40% ($\beta = -1,61 \pm 0,69$, $z = -2,33$, $p = 0,019$) menos ovos em relação ao controle, seguido da combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' (38%) ($\beta = -1,23 \pm 0,65$, $z = -1,89$, $p = 0,053$) (Figura 5A).

Borgoni *et al.* (2014) observaram que *P. trifoliata* cv. 'Rubidoux' foi o genótipo com o menor número de ovos quando comparado a sete outros genótipos cítricos. Esse mesmo comportamento de não preferência para oviposição em genótipo *P. trifoliata* e seus híbridos, como o porta-enxerto BRS 'H. Montenegro', também foi observado em outros estudos (George; Lapointe, 2019; Hernández-Suárez *et al.*, 2021; Jones; Killiny, 2021; Westbrook *et al.*, 2011).

Figura 5 - Gráfico de efeito dos tratamentos a partir de análise de dados por modelo generalizado misto (GLMM) para número de ovos encontrado nas plantas em teste de preferência, em gaiola telada. A. Condição de dupla escolha em uma gaiola contendo uma planta tratamento e uma planta controle. B. Condição sem escolha em gaiola com apenas uma planta.



A.



B.

Abreviações: 'Valência Tuxpan'/ Limão 'Cravo Santa Cruz' (Tuxpan+LCSC), 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 (Tuxpan+LCR008), 'Valência Tuxpan'/BRS Ary S (Tuxpan+AryS), 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' (Tuxpan+FD), 'Valência Tuxpan'/'BRS 'H Montenegro' (Tuxpan+H.Montenegro), 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria' (Tuxpan+Victoria), 'Valência Tuxpan'/'Tangerineira 'Sunki Tropical' (Tuxpan+Sunki).

Em condição sem escolha, as combinações que apresentaram as maiores reduções foram 'Valência Tuxpan'/'TSKCxCTCM-008 (40% a menos de ovos), 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria' (20%) e 'Valência Tuxpan'/'BRS 'H. Montenegro' (13% a menos de ovos). O controle apresentou média de 29,6 ovos e as combinações 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' (n = 44,2 ovos) e 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' (n = 36,6 ovos) parecem estimular a oviposição, sugerindo propriedades atrativas para postura.

O porta-enxerto pode modular as respostas comportamentais do inseto em relação à copa, tornando-a mais ou menos apropriada à colonização e à oviposição. Estudos anteriores haviam relatado a maior preferência e sucesso de desenvolvimento do inseto em plantas de copa 'Valência' enxertada em Limoeiro 'Cravo' quando comparado a outros porta-enxertos como Citrumelo 'Swingle' e Tangerina 'Sunki'. Foram relatados variação de 83% a 79% para viabilidade de ovos, 88% a 70% para viabilidade ovo-adulto e menor duração do ciclo biológico de ovo a adulto (14,9 dias) quando comparada a copa 'Valência' enxertada em Limão 'Cravo' à outras combinações com outros porta-enxertos (Alves *et al.*, 2018; Pérez-Artiles *et al.*, 2017; Tsai e Liu, 2000). Estes dados corroboram a característica preferencial desta combinação, utilizada como grupo controle no presente estudo.





































Também para a copa *C. sinensis* 'Valência', foram observados os menores valores de viabilidade de ovos, maior tempo de desenvolvimento na fase ninfal (11,20 dias) quando na combinação 'Valência'/Citrumelo 'Swingle' (Pérez-Artiles *et al.*, 2017).

Em ensaios de preferência para oviposição de *D. citri*, detectou-se redução no número de ovos em híbridos de *Microcitrus* e *Eremocitrus*, quando comparados com *C. sinensis* (controle). Estes híbridos também apresentaram antibiose em relação ao controle, com menor viabilidade ovo-adulto, menor viabilidade ninfal e dissuasão de ninfas de terceiro ao quinto instar para *E. glauca* (Eduardo *et al.*, 2022).

Estes estudos corroboram os resultados obtidos no presente trabalho, em referência à influência de genótipos porta-enxerto na copa comercial. Vale ressaltar que os cruzamentos para obtenção de híbridos de citros desempenham um papel fundamental na diversificação genética e no melhoramento de características agronômicas e fitossanitárias das plantas, pois tendem a preservar características desejáveis para tolerância a doenças, produtividade e qualidade de frutos. Como exemplo, o citrumelo 'Swingle', híbrido de Toranja (*Citrus paradisi*) × Trifoliata (*P. trifoliata*), herdou a presença de compostos secundários adversos em *P. trifoliata* (parental do citrumelo), segundo Pérez-Artiles *et al.* (2017). Isto pode justificar os dados promissores de interferência negativa no desenvolvimento do inseto sobre a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro', descendente de cruzamento de Limoeiro 'Cravo' (*C. limonia*) x *P. trifoliata*.

Os dados apresentados revelaram plasticidade comportamental de *D. citri* em relação às diferentes combinações da copa *C. sinensis* 'Valência Tuxpan' nos diferentes porta-enxertos, tendo a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' caracterizada como um catalizador *pull*, com neutralidade no número de insetos e migrantes em relação ao controle e aumento de atratividade para oviposição (Tabela 3). A recomendação é de evitar a utilização desta combinação em pomares cítricos, especialmente em regiões com histórico de altas infestações pelo inseto vetor, especialmente na região Nordeste ainda indene à doença. Em caso de sistemas *push-pull*, esta combinação pode ser recomendada como cultura armadilha, favorecendo o controle por meio de inseticidas sistêmicos (controle local ou pontual).

Tabela 3 - Classificação das combinações de copa *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan' e seis porta-enxerto em relação ao comportamento de *Diaphorina citri* a partir de testes de preferência e oviposição, em condições de dupla escolha e sem escolha, tendo a combinação 'Valência Tuxpan'/Limão 'Cravo Santa Cruz' como referência de atratividade. Cores das marcações: vermelha representa efeito negativo para o inseto, amarela representa moderado efeito contra o inseto, verde representa efeito favorável ao inseto. As estrelas representam as vantagens de cada combinação em relação a número de insetos, migrantes putativos e ovos em relação ao controle.

Combinações	Dupla escolha			Sem escolha			Padrão consolidado		
	Número de insetos	Número de migrantes	Número de ovos	Número de insetos	Número de migrantes	Número de ovos	Preferência	Oviposição	Classificação
'Valência Tuxpan'/ BRS 'H. Montenegro'	 -54,00%	 +121.2%	 -40%	 -8,70%	 +52.1%	 -12,80%	Fortemente repelente	Fortemente inibidor	★★★★★
'Valência Tuxpan'/ TSKCxCTCM-008	 -44,00%	 +93.6%	 -31,30%	 -5,40%	 -40,80%	 -39,90%	Repelente	Inibidor	★★★★
'Valência Tuxpan'/ BRS 'Victoria'	 -34,00%	 +71.6%	 -38,20%	 -5,60%	 +13.6%	 -9,40%	Moderadamente repelente	Inibidor	★★★
'Valência Tuxpan'/ 'Flying Dragon'	 -20,00%	 +49.6%	 -15,60%	 +6,50%	 -6.8%	 -19,60%	Neutro/Leve Repelência	Levemente inibidor	★★
'Valência Tuxpan'/ Tangerineira 'Sunki Tropical'	 -19,00%	 +16.5%	 -22,60%	 -3,10%	 -40,80%	 +23,60%	Repelência fraca	Neutro	★★
'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S'	 -8,98%	 +9,0%	 +21,0%	 -2,50%	 -18,10%	 +49,3%	Neutro	Fortemente Atrativo	★

A combinação 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 apresentou características de antixenose consistente, tanto para insetos quanto para ovos (Tabela 3). No entanto, em condições ótimas de estresse biótico e abiótico, essa combinação apresentou perfil de voláteis próximo ao perfil de combinações atraentes, com destaque para *D*-limoneno, *p*-cimeno, e ausência de sesquiterpenos e homoterpenos e sem diferença em relação ao controle, sendo classificado como atraente ao psilídeo (Capítulo 1).

Os resultados observados sugerem que a não-preferência de *D. citri* pode estar associada à ativação de mecanismos de defesa após o contato com a planta e/ou em resposta à herbivoria, incluindo oviposição. Estudos anteriores demonstram que esse tipo de interação pode desencadear tanto defesas diretas quanto indiretas, promovendo alterações na produção e liberação de compostos bioativos com propriedades repelentes (Silva; Panizzi, 2019). Em variedades cítricas, já foi relatado que a herbivoria por *D. citri* pode modular qualitativa e quantitativamente o perfil de voláteis, o que afeta diretamente o reconhecimento e a aceitação do hospedeiro pelo inseto (Jones; Killiny, 2021).

Outra hipótese para a forte repelência observada refere-se à presença de barreiras morfofisiológicas intrínsecas, as quais podem dificultar o acesso, a fixação ou a oviposição por parte do inseto. Estruturas como tricomas, espessamento de parede celular, composição da cutícula e deposição de cera já foram associados à resistência física em outras espécies vegetais e podem exercer efeitos semelhantes em citros (Vendramim; Nishikawa, 2001).

Em estudo sobre os mecanismos de defesa de plantas cítricas à *Bactrocera minax* Enderlein (1920), Wei *et al.*, (2024) demonstraram que a oviposição desencadeia a ativação da via de síntese de lignina nas laranjas doce. Essa evidência molecular apoia a ideia de que as plantas cítricas desenvolvem defesas específicas contra ovos de insetos. Os autores observaram também o acúmulo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) nos locais onde ocorreu a oviposição e destacaram a rápida indução de hormônios relacionados à defesa vegetal, especificamente ácido jasmônico (JA) e ácido salicílico (SA). Esses mecanismos são frequentemente associados às respostas de defesa da planta e indicam uma reação bioquímica à atividade do inseto (Wei *et al.*, 2024).

Ensaio adicionais serão necessários para validar essas hipóteses e caracterizar os fatores determinantes na resistência da combinação 'Valência

Tuxpan'/ TSKCxCTCM-008 observada. Portanto, os dados obtidos neste estudo abrem perspectivas para a investigação dos mecanismos morfológicos e químicos envolvidos na resistência comportamental de citros a *D. citri*.

Em destaque, a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' se manifestou com ação repelente, induzindo comportamento de repulsa consistente do inseto, tanto para redução no assentamento, quanto para elevação da migração do inseto, confirmando seu papel de dissuador. Esta combinação apresentou, ainda, forte característica deterrente para oviposição (Tabela 3). Isto alinha-se ao perfil diversificado de compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas, ricos em β -cariofileno, neral e camphor. Adicionalmente, há ainda a possibilidade da presença de quimiorrepelentes de contato com atuação na inibição de alimentação e oviposição e outras estruturas de resistência por antixenose como estruturas de defesa físicas e morfológicas (tricomos, cera, espessura, dureza), as quais deverão ser investigadas em etapa posterior (Baldin; Pannuti; Bentivenha, 2019; Eduardo *et al.*, 2022).

Estas características abrem perspectivas para uso das combinações 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' e 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 em programas de melhoramento genético para cruzamentos visando piramidização de genes de repelência e identificação e síntese de compostos voláteis inibidores de oviposição. Podem ser usadas, também, em testes de campo como componentes de sistemas *push-pull* aliadas a combinações atraentes, como a 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S', oferecendo o maior potencial para o manejo sustentável de *D. citri*.

4. CONCLUSÕES

A preferência de *D. citri* por determinadas combinações de copa e porta-enxerto representa um critério relevante na seleção de genótipos com potencial para modular o comportamento do vetor em pomares comerciais.

Os resultados obtidos neste estudo destacam o potencial dos porta-enxertos modularem o comportamento do vetor quando em combinações com a copa comercial *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan'. A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' apresentou resistência por antixenose, com potencial

para aplicação como componente *push*. A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' mostrou-se altamente atrativa, sendo indicada como elemento *pull*.

Tais achados reforçam a importância da interação copa/porta-enxerto em estratégias integradas e sustentáveis de manejo do vetor, especialmente em áreas ainda livres da doença.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, G. R.; BELOTI, V. H.; FAGGIONI-FLORIANO, K. M.; CARVALHO, S. A. DE; MORAL, R. DE A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; PARRA, J. R. P.; YAMAMOTO, P. T. Does the scion or rootstock of *Citrus* sp. affect the feeding and biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 77–84, 2018.

AMORÓS, M. E.; PEREIRA DAS NEVES, V.; RIVAS, F.; BUENAHORA, J.; MARTINI, X.; STELINSKI, L. L. ROSSINI, C. Response of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) to volatiles characteristic of preferred citrus hosts. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 13, n. 3, p. 367–374, 2019.

ANDRADE, M. D. S.; RIBEIRO, L. DO P.; BORGONI, P. C.; SILVA, M. F. DAS G. F. DA; FORIM, M. R.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; VENDRAMIN, J. D.; MACHADO, M. A. Essential Oil Variation from TwentyTwo Genotypes of *Citrus* in Brazil – Chemometric Approach and Repellency Against *Diaphorina citri* Kuwayama. **Molecules** (Basel, Switzerland), v. 21, n. 6, 2016.

BORGONI, P. C.; VENDRAMIM, J. D.; LOURENCÃO, A. L.; MACHADO, M. A. Resistance of *Citrus* and Related Genera to *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 5, p. 465–469, 2014.

BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 1, p. 7–37, 2006.

EDUARDO, W. I.; MIRANDA, M. P.; VOLPE, H. X. L.; GARCIA, R. B.; GIRARDI, E. A.; ALQUÉZAR, B.; RUIZ, A. E.; PEÑA, L. Resistance of True *Citrus* species to *Diaphorina citri*. **Pest Management Science**, v. 78, n. 11, p. 4783–4792, 2022.

EDUARDO, W. I.; SILVA, A. C.; VOLPE, H. X. L.; ALQUÉZAR, B.; PEÑA, L.; MIRANDA, M. P. Push-pull and kill strategy for *Diaphorina citri* control in citrus orchards. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 171, n. 4, p. 287–299, 2023.

EFENDI, D.; BUDIARTO, R.; POERWANTO, R.; SANTOSA, E.; AGUSTA, A. Relationship among agroclimatic variables, soil and leaves nutrient status with the yield and main composition of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC) leaves essential oil. **Metabolites**, v. 11, n. 5, 2021.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT: Crops and livestock products**. Roma: FAO, [2025?]. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 2 jul. 2025.

FERNANDO, S. S. S. T.; JAYASOORIYA, R. G. P. T.; SAMARAKOON, K. W.; WIJEGUNAWARDANA, N. D. A. D.; ALAHAKOON, S. B. Citrus-Based Bio-Insect Repellents — A Review on Historical and Emerging Trends in Utilizing Phytochemicals of Citrus Plants. **Journal of Toxicology**, John Wiley and Sons Ltd, 2024.

FUNDECITRUS. **Greening: o desafio continua e exige mais esforços**. p. 14–22, 2022.

GEORGE, J.; LAPOINTE, S. L. Host-plant resistance associated with *Poncirus trifoliata* influence oviposition, development and adult emergence of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Pest Management Science**, v. 75, n. 1, p. 279–285, 2019.

GOTTWALD, T. R. *et al.* Investigations of the Effect of Guava as a Possible Tool in the Control/Management of Huanglongbing. **International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010)**, v. 17, 2010.

HERNÁNDEZ-SUÁREZ, E.; SUÁREZ-MÉNDEZ, L.; PARRILLA, M.; ARJONA-LÓPEZ, J. M.; HERVALEJO, A.; ARENAS-ARENAS, F. J. Feeding and oviposition behaviour of *Trioza erytrae* (Hemiptera: Triozidae) on different citrus rootstock material available in Europe. **Insects**, v. 12, n. 7, 2021.

HU, S.; ZHANG, A.; WU, H.; PENG, W.; LI, P.; SU, W. Analysis of Volatile Compounds in *Citri grandis* from Different Regions in South China and the Response of Volatile Compounds to Ecological Factors. **Molecules**, v. 30, n. 3, 2025.

JAYANTHI, P. D. K.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J.; BIRKETT, M. A.; BRUCE, T. J. A. Isolation and identification of host cues from mango, *Mangifera indica*, that attract gravid female oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 38, n. 4, p. 361–369, 2012.

JONES, S. E.; KILLINY, N. Influence of rootstock on the leaf volatile organic compounds of citrus scion is more pronounced after the infestation with *Diaphorina citri*. **Plants**, v. 10, n. 11, 2021.

KILLINY, N.; JONES, S. E. Profiling of volatile organic compounds released from individual intact juvenile and mature citrus leaves. **Journal of Plant Physiology**, v. 208, p. 47–51, 2017.

KILLINY, N.; JONES, S. E.; HIJAZ, F.; KISHK, A.; SANTOS-ORTEGA, Y.; NEHELA, Y.; OMAR, A. A.; YU, Q.; GMITTER, F. G.; GROSSER, J. W.; DUTT, M. Metabolic profiling of hybrids generated from pummelo and *Citrus latipes* in relation to their attraction to *Diaphorina citri*, the vector of huanglongbing. **Metabolites**, v. 10, n. 12, p. 1–17, 2020.

LARANJEIRA, F. F.; SANTOS, T. T. C.; MOREIRA, A. S.; SANCHES, I.; NASCIMENTO, A. S.; SILVA, S. X. B.; ANDRADE, E. C.; ALMEIDA, D. O. Association Between Citrus Flushing Cycles and Asian Citrus Psyllid Demography in Huanglongbing-Free Area in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 48, n. 3, p. 503–514, 2019.

LI, Y. J.; LIU, T. A.; ZHAO, H.; HAN, Y.; LOU, B. H.; LEI, C. Y.; SONG, Y. Q.; JIANG, H. B. Repellency, Toxicity, and Chemical Composition of Plant Essential Oils from Myrtaceae against Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Molecules**, v. 29, n. 14, 2024.

LURO, F.; NEVES, C. G.; COSTANTINO, G.; SILVA GESTEIRA, A. DA; PAOLI, M.; OLLITRAULT, P.; TOMI, F.; MICHELI, F.; GIBERNAU, M. Effect of Environmental Conditions on the Yield of Peel and Composition of Essential Oils from Citrus Cultivated in Bahia (Brazil) and Corsica (France). **Agronomy**, v. 10, n. 9, 2020.

MAKHLOUF, L.; FAKHOURI, K. EL; KEMAL, S. A.; MAAFA, I.; MEFTAH KADMIRI, I.; BOUHSSINI, M. EL. Potential of volatile organic compounds in the management of insect pests and diseases of food legumes: a comprehensive review. **Frontiers in Plant Science**, v. 15, 2024.

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, 2012.

NIU, D.; XU, L.; LIN, K. Multitrophic and Multilevel Interactions Mediated by Volatile Organic Compounds. **Insects**, MDPI, 1 ago. 2024.

NOTTINGHAM, I. 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 non-host plant volatiles. **Journal of Chemical Ecology**, v.17, n. 6, 1991.

PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; TORRES, M. L. G.; NAVA, D. E.; PAIVA, P. E. B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 1, p. 37–51, 2010.

PÉREZ-ARTILES, L.; BUSOLI, A. C.; SOTELO, P. A.; ARCILA, A. M. Biology and reproductive parameters of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in different Rutaceae hosts. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 43, n. 2, p. 141–150, 2017.

RAO, C. N.; SINGH, I. P.; SHIVANKAR, V. J.; DHENGRE, V. N. Evaluation of citrus germplasm for resistance to Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Pest management in Horticultural Ecosystems**. V. 19, n 2, p 152-155, 2013.

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 (*Diaphorina citri*). **Florida Entomologist**, v. 95, n. 3, p. 774–776, 2012.

SILVA, M.; PATT, J.M.; BARBOSA, C. DE; FANCELLI, M.; MESQUITA, P.; RODRIGUES, F. DE; SCHNADELBACH, A. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) responses to plant-associated volatile organic compounds: a mini-review. **Crop Protection**, Elsevier Ltd, 2023.

SÉTAMOU, M.; SIMPSON, C. R.; ALABI, O. J.; NELSON, S. D.; TELAGAMSETTY, S.; JIFON, J. L. Quality matters: Influences of citrus flush physicochemical characteristics on population dynamics of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae). **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, 2016.

SIGNORETTI, A. G. C. **Identificação de voláteis de plantas de citros com potencial para uso no manejo integrado de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)**. Universidade de São Paulo (USP), Piracicaba, São Paulo, Brasil, 20105. Tese (Doutorado em Entomologia). Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11146/tde-10042015-095848/pt-br.php>. Acessado em 12 jan. 2025.

SKELLEY, L. H.; HOY, M. A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, v. 29, n. 1, p. 14–23, 2004.

WESTBROOK, C. J.; HALL, D. G.; STOVER, E.; DUAN, Y. P.; LEE, R. F. Colonization of *Citrus* and citrus-related germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **HortScience**, v. 46, n. 7, p. 997–1005, 2011.

YANG, K.; LLUSIÀ, J.; PREECE, C.; TAN, Y.; PEÑUELAS, J. Exchange of volatile organic compounds between the atmosphere and the soil. **Plant and Soil**, 1 ago. 2024.

CAPÍTULO 3

Modulação do comportamento alimentar de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) em citros: antixenose como estratégia para controle do Huanglongbing

RESUMO

O Huanglongbing (HLB), ainda sem cura, tem causado prejuízos significativos à citricultura brasileira, com impactos crescentes na produção e exportação. A rápida disseminação da doença no cinturão citrícola preocupa produtores, pesquisadores e autoridades, demandando estratégias mais eficazes de manejo. Atualmente, a erradicação de plantas sintomáticas, o uso de mudas sadias e o controle do vetor *Diaphorina citri* são os principais métodos de contenção. Neste contexto, o manejo integrado de pragas, com ênfase no controle comportamental, surge como ferramenta promissora. Este estudo avaliou o comportamento alimentar de *D. citri* em plantas de *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan' enxertadas sobre diferentes porta-enxertos, por meio da técnica de gráfico de penetração elétrica (EPG). Fêmeas virgens (4 a 7 dias) foram conectadas a sonda do EPG e observadas em 30 repetições por tratamento. As combinações testadas envolveram os seguintes porta-enxertos: Limão 'Cravo Santa Cruz', BRS 'H. Montenegro', BRS 'Victoria', TSKCxCTCM-008, Tangerineira 'Sunki Tropical', BRS 'Ary S' e *Poncirus trifoliata* 'Flying Dragon'. Foram registrados e analisados os seguintes eventos de alimentação: não sondagem (Np), sondagem intercelular (C), penetração no floema (D), salivação (E1), ingestão de floema (E2) e ingestão de xilema (G). As variáveis consideradas incluíram número, duração e frequência relativa dos eventos, analisada via Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição gama e função log, e significância avaliada por análise de deviance (ANOVA tipo χ^2). A combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' apresentou maior duração de alimentação sustentada no floema ($E2 > 10$ min), enquanto 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' demonstrou redução significativa na fase E2, sugerindo resistência antixenótica floemática. Esses resultados indicam que a capacidade da planta em restringir o acesso prolongado ao floema pode limitar a eficiência da alimentação e, conseqüentemente, a transmissão do patógeno *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas). Os resultados reforçam que a resistência ao HLB envolve múltiplos mecanismos, destacando-se a importância da interação copa/porta-enxerto na modulação do comportamento alimentar do vetor.

Palavras-chave: psilídeo asiático dos citros, EPG, comportamento alimentar, resistência.

**Modulation of feeding behavior in *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(Hemiptera: Psyllidae) on citrus: antixenosis as a strategy for
Huanglongbing control**

ABSTRACT

Huanglongbing (HLB), which remains incurable, has inflicted significant economic losses on Brazilian citriculture, with escalating impacts on production and exports. The disease's rapid dissemination throughout the citrus belt has raised concerns among growers, researchers, and authorities, necessitating more effective management strategies. Current primary containment measures include eradicating symptomatic plants, using disease-free nursery stock, and controlling the vector *Diaphorina citri*. Within this context, integrated pest management emphasizing behavioral control emerges as a promising tool. This study evaluated the feeding behavior of *D. citri* on *Citrus sinensis* 'Valência Tuxpan' scions grafted onto distinct rootstocks using electrical penetration graph (EPG) methodology. Virgin females (4–7 days old) were EPG-monitored in 30 replicates per treatment. Tested combinations included the following rootstocks: 'Cravo Santa Cruz' lemon, BRS 'H. Montenegro', BRS 'Victoria', TSKCxCTCM-008, 'Sunki Tropical' mandarin, BRS 'Ary S', and *Poncirus trifoliata* 'Flying Dragon'. Feeding events recorded and analyzed comprised: no probing (Np), intercellular probing (C), phloem penetration (D), salivation (E1), phloem ingestion (E2), and xylem ingestion (G). Analyzed variables included event number, duration, and relative frequency, assessed via Generalized Linear Model (GLM) with gamma distribution and log-link function, with significance determined by chi-square deviance analysis. The 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' combination exhibited the longest sustained phloem feeding duration (E2 > 10 min), whereas 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' showed significant reduction in E2 duration, suggesting phloem-specific antixenotic resistance. These results indicate that a plant's capacity to restrict prolonged phloem access may limit feeding efficiency and subsequent transmission of *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs). Our findings reinforce that HLB resistance involves multilayered mechanisms, highlighting the critical role of scion-rootstock interactions in modulating vector feeding behavior.

Keywords: Asian citrus psyllid, EPG, feeding behavior, resistance.

1. INTRODUÇÃO

Plantas de citros, assim como de todas as espécies cultivadas economicamente, em condições ótimas de desenvolvimento, possuem um potencial genético produtivo muito mais alto do que o produtor consegue obter. Isto porque, no campo, elas estão sujeitas a muitos fatores bióticos e abióticos que causam estresse fisiológico, reduzindo ou limitando a sua produção (Embrapa, 2005).

Um desses fatores bióticos é a infecção das plantas pelas bactérias *Candidatus Liberibacter* spp., associadas à doença *Huanglongbing* (HLB), transmitida pelo vetor *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae). Ainda sem cura, o HLB tem causado prejuízos da ordem de milhões de reais ao longo dos 21 anos, desde a sua detecção no Brasil, e sua rápida expansão pelo cinturão citrícola brasileiro tem preocupado os especialistas, governo e produtores, pois ameaça reduzir ainda mais a produção e exportação nas próximas safras no Brasil (Fundecitrus, 2024).

Até o momento, a erradicação de árvores sintomáticas, o uso de mudas saudáveis e o controle do psílídeo são os meios mais eficientes de contenção da doença. Porém, o uso indiscriminado de inseticidas, aliado à ausência de rotação de produtos com distintos modos de ação, tem favorecido a seleção de populações de psílídeos resistentes, resultando em um aumento na incidência da doença, de 38% para 44% em 2024 no cinturão citrícola brasileiro (Fundecitrus, 2024).

Nesse contexto, medidas de controle alternativas aos inseticidas, implementadas de forma coordenada, são urgentes e necessárias. Entre essas estratégias, destaca-se o controle comportamental como uma importante ferramenta do manejo integrado de pragas para minimizar a disseminação da doença nos pomares cítricos (Gottwald *et al.*, 2010).

A compreensão das interações planta-inseto é essencial para o desenvolvimento e aprimoramento de estratégias de controle focadas na manipulação do comportamento de herbívoros. Considerando que a transmissão das bactérias associadas ao HLB depende da atividade alimentar de *D. citri* e que a ingestão de metabólitos secundários tóxicos presentes em certos hospedeiros pode provocar alterações fisiológicas nos insetos (Borgoni *et al.*, 2014; Nava *et al.*, 2007; Westbrook *et al.*, 2011), torna-se fundamental investigar o comportamento

alimentar do vetor em diferentes plantas hospedeiras. Fatores como a qualidade da seiva, incluindo pH e presença de substâncias inibidoras de alimentação, além de barreiras físicas como a presença de fibras de parede espessas que circundam o floema, podem variar entre as variedades cítricas e influenciar o comportamento alimentar do inseto (Alves *et al.*, 2018; Ammar *et al.*, 2014; George; Lapointe, 2019).

A técnica de Gráficos de Penetração Elétrica (*Electrical Penetration Graph* – EPG) proporciona o monitoramento em tempo real dos estiletes dos insetos sugadores, sendo utilizada na avaliação do comportamento alimentar dos insetos visando estudos de transmissão de patógenos, identificação de resistência para seleção de plantas, efeitos de fatores bióticos e abióticos estressores, avaliação dos efeitos da modificação genética de plantas e efeitos de agroquímicos e outros compostos químicos (Walker; Fereres; Tjallingii, 2024). Esta técnica permite o estudo em tempo real das atividades dos estiletes de um inseto em tecidos vegetais, e aliada a outros procedimentos como cortes histológicos, tem sido utilizada para elucidar as interações entre as plantas, os vetores e os agentes fitopatogênicos (Bonani *et al.*, 2010; George *et al.*, 2017; Walker; Fereres; Tjallingii, 2024).

Bonani *et al.* (2010) investigaram as atividades de penetração dos estiletes de *D. citri* em mudas de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. Pera pela técnica de EPG. Neste estudo, os autores descreveram e caracterizaram as formas de onda associadas ao comportamento alimentar do psilídeo nas plantas. Foram identificadas as formas de onda correspondentes à sondagem intercelular (C), penetração no floema (D), salivação no floema (E1), ingestão no floema (E2) e ingestão no xilema (G).

Por meio de estudos de EPG, determinou-se que adultos de *D. citri* se alimentam predominantemente do floema, raramente do xilema e não se alimentam de parênquima. Além disso, a aquisição e transmissão das bactérias associadas ao HLB ocorre durante a ingestão no floema (Bonani *et al.*, 2010; Cen *et al.*, 2012). Inclusive, devido à preferência do psilídeo para alimentação em folhas jovens, George *et al.* (2017) evidenciaram que a aquisição e a transmissão do patógeno são mais prováveis em plantas com brotações e folhas jovens do que em folhas maduras. Segundo esses autores, esse comportamento está relacionado ao anel fibroso esclerenquimatoso, que, por ser mais desenvolvido em folhas maduras, torna o floema menos acessível ao inseto (George *et al.*, 2017). De acordo com

George *et al.* (2017), essa estrutura (anel fibroso) pode também ser utilizada para a identificação e desenvolvimento de cultivares cítricas com maior resistência à *D. citri*.

A elucidação do comportamento alimentar do inseto fornece informações relevantes sobre o potencial de plantas como hospedeiras do inseto ou do patógeno. Com base na atividade alimentar de *D. citri*, a murta (*Murraya paniculata*) foi confirmada como hospedeira preferencial do inseto, porém a trifoliata (*P. trifoliata* L.), considerada pouca atrativa em estudos de pouso, mostrou ser hospedeira favorável pela grande atividade alimentar do inseto (Yang *et al.*, 2013).

Desse modo, o objetivo deste trabalho foi investigar o comportamento alimentar de *D. citri* em combinações envolvendo a copa 'Valência Tuxpan' com diferentes porta-enxertos, utilizando a técnica de gráfico de penetração elétrica (EPG). Estas informações subsidiarão investigações futuras para avaliar possíveis mecanismos de resistência à alimentação de *D. citri*, a fim de confirmar a base fisiológica da resistência observada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local, período e outras informações gerais do (s) experimento (s)

As análises de EPG foram realizadas no laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura (12°40'29.9"S; 39°06'9.9"W), localizado no município de Cruz das Almas-BA

2.2 Obtenção dos insetos

Adultos de *D. citri* utilizados neste estudo foram provenientes da criação do Laboratório de Entomologia da Embrapa Mandioca e Fruticultura. A criação foi mantida em gaiolas teladas (60 cm x 60 cm), sendo quatro mudas de murta por gaiola, em sala à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 5\%$ e fotofase de 14L:10E (Skelley; Hoy, 2004). As plantas de murtas foram manejadas com podas a cada 10 a 15 dias para disponibilização constante de brotações jovens para estimular a oviposição do inseto e a adubação foliar foi realizada uma vez por semana.

Adultos com 24 horas de emergência provenientes da criação foram coletados, separados de acordo com o sexo e as fêmeas virgens foram mantidas em gaiolas próprias até o momento do experimento. Foram utilizados insetos fêmeas de quatro a sete dias de idade para os ensaios de EPG

2.3 Obtenção e manutenção das plantas de citros

Os genótipos de citros utilizados neste capítulo foram copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertada nos porta-enxertos: Limão 'Cravo Santa Cruz', BRS 'H Montenegro', BRS 'Victoria', TSKCxCTCM-008, Tangerineira 'Sunki Tropical', BRS 'Ary S' e *Poncirus trifoliata* 'Flying Dragon'. A manutenção das plantas seguiu um rigoroso controle experimental, sendo utilizadas plantas de 1,5 a 2 anos de idade, de 40 cm a 50 cm de tamanho, com brotações jovens entre 3 a 5 cm e ausência de pragas e doenças (Figura 1).

Figura 1 - Mudas de citros com copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em porta-enxertos cítricos. A. Detalhe de brotação jovem da combinação 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'. B. Detalhe de brotação jovem da combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S'.



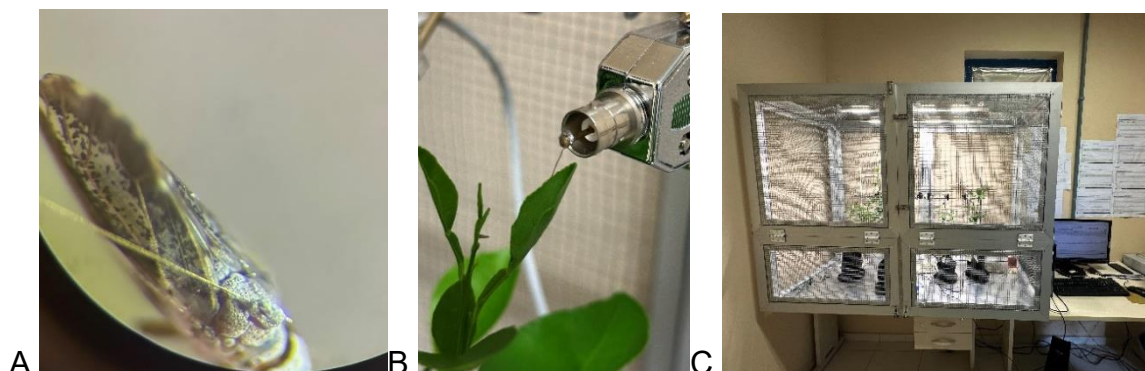
Autora: Maria de Fátima Costa Pinto

2.4 Ensaios de Gráficos de Penetração Elétrica (EPG)

Os psilídeos foram coletados e mantidos em jejum por 1h antes do experimento. Os insetos foram colocados em freezer (- 4°C) por 1 min para

anestesiá-los e imediatamente imobilizados em câmara de vácuo (George *et al.*, 2017). Utilizando um estereomicroscópio, um fio de ouro (3 cm de comprimento e 18 μm de diâmetro; EPG Systems, Wageningen, Holanda) ligado a um eletrodo de cobre foi colado no pronoto do inseto, utilizando cola condutora de prata (16034 Pelco Colloidal Silver, Ted Pella Inc., Redding, CA, EUA). O eletrodo de cobre foi conectado à sonda de EPG e o inseto foi colocado na superfície abaxial das folhas jovens. Para completar o circuito elétrico, outro eletrodo de cobre foi colocado no substrato da planta. Esse sistema de monitoramento foi montado dentro de uma gaiola de Faraday para evitar ruídos elétricos externos, em sala com condições ambientais controladas (temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $60 \pm 2\%$, luz de LED 5500K \pm 500K e 3000 lux) (Figura 2).

Figura 2 - Ensaio de Gráficos de Penetração Elétrica (EPG). A. Detalhe do fio de ouro colado no pronoto de *Diaphorina citri*. B. Detalhe do conjunto sonda do EPG + eletrodo de cobre + fio de ouro + inseto. O inseto foi colocado na região abaxial de folhas jovens de plantas cítricas. C. Sistema de monitoramento de EPG dentro da gaiola de Faraday.



Autora: Maria de Fátima Costa Pinto

Foram monitoradas trinta fêmeas virgens, entre quatro e sete dias de vida, para cada tratamento. Cada psíldeo foi monitorado por oito horas, no período das 9h às 17h. Os sinais elétricos foram amplificados pelo equipamento de EPG de corrente contínua de 8 canais, modelo Giga-8d, e as formas de onda foram adquiridos e analisados usando o software Stylet+ para Windows (EPG Systems). As variáveis foram processadas usando arquivo digital EPG-Excel Data Workbook desenvolvido por Sarriá *et al.* (2009). Foi utilizado um inseto por planta e uma planta diferente para cada repetição (Walker; Fereres; Tjalingii, 2024).

O número e a duração das formas de onda foram registrados de acordo com a metodologia descrita por Bonani *et al.* (2010): não sondagem (Np), sondagem intercelular (C), penetração no floema (D), salivação no floema (E₁), ingestão no floema (E₂), ingestão no xilema (G). As variáveis analisadas estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Variáveis EPG analisadas para fêmeas de *Diaphorina citri* e descrição da atividade alimentar correspondente.

Item	Variável	Acrônimo	Descrição
1	Número de eventos em NP	NP	Fase inativa dos estiletes
2	Duração em NP		
3	Número de eventos em C	C	Fase em que o inseto inseriu o estilete no espaço intercelular do parênquima
4	Duração em C		
5	Número de eventos em D	D	Fase em que o inseto sondou o floema, iniciando a salivação extracelular
6	Duração em D		
7	Número de eventos em E1	E1	Fase em que o inseto salivou no vaso do floema, evento que antecede a alimentação
8	Duração em E1		
9	Número de eventos em E2	E2	Fase em que o inseto ingeriu seiva floemática, indicando alimentação
10	Duração em E2		
11	Número de eventos em G	G	Fase em que o inseto ingeriu seiva do xilema
12	Duração em G		
13	Número de eventos em E2 sustentada	E2_longer	Fase em que o inseto passou mais de dez minutos se alimentando, indicando alimentação sustentada.
14	Duração em E2 sustentada		
15	Tempo do início do EPG para a primeira E2	t_1st E2	Tempo do início do monitoramento até o primeiro registro da fase de alimentação (E2)
16	Porcentagem de tempo gasto na fase E2	%_t_E2	Tempo gasto na fase E2 sobre o tempo do monitoramento
17	Proporção de C	%_C	Número de insetos que realizaram uma forma de onda sobre o número de insetos monitorados
18	Proporção D	%_D	
19	Proporção de E1	%_E1	
20	Proporção de E2	%_E2	

As formas de onda foram registradas com base na descrição de Bonani *et al.* (2009).

2.5 Estatística

Foi realizado o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos resíduos e o teste de Bartlett para avaliar a homogeneidade das variâncias entre

os grupos a 5% de significância. Como os dados não seguiram uma distribuição normal, para análise da duração de cada forma de onda, utilizou-se um Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição gama e função de ligação logarítmica, devido à natureza positiva e assimétrica dos dados de tempo, garantindo adequação aos pressupostos do modelo (McCullagh; Nelder, 1989). Modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição de Poisson foram usados para analisar o número de eventos de cada forma de onda e teste binomial exato foi utilizado para analisar dados de proporção de tempo gasto em cada fase. Os pressupostos dos modelos foram verificados via análise gráfica de resíduos e teste de sobredispersão. Especificamente, aplicou-se o teste de dispersão não paramétrico que compara o desvio padrão dos resíduos observados com uma distribuição simulada de resíduos sob a hipótese nula de adequação do modelo ($p > 0,05$). Os dados de proporção de indivíduos que produziram um determinado tipo de onda foram analisados usando o teste qui-quadrado (χ^2) a 5% de significância. A significância global do efeito dos tratamentos foi avaliada por análise de deviance (ANOVA tipo χ^2), para indicar diferença entre as combinações se $p < 0,05$, garantindo que seria válido prosseguir com comparações múltiplas.

No caso de diferenças significativas entre os tratamentos, a comparação entre as combinações foi feita por meio do teste de Tukey, com agrupamento por letras indicativas de diferença significativa a 5% de probabilidade.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R v.4.4.3 (R Core Team, 2025).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à prova inicial (*probing*), todos os genótipos avaliados foram acessados pelo inseto, com 100% dos indivíduos realizando a penetração do tecido vegetal, o que indica que nenhuma combinação copa/porta-enxerto apresentou barreiras iniciais à entrada do inseto. Esse dado evidencia que *D. citri* reconhece todas as variedades como hospedeiras potenciais para alimentação, sendo a resistência diferencial entre as combinações expressa em etapas posteriores do processo alimentar (Tabela 2).

Tabela 2 - Proporção de formas de onda geradas pela alimentação de fêmeas de *Diaphorina citri* (n = 30) em diferentes combinações de porta-enxertos com a copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan', por oito horas, em estudo de EPG.

Combinações copa e porta-enxerto	Formas de onda				
	C	E1	E2	E2 >10 min	G
'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (controle)	100% (30/30) a	83% (25/30) ab	80% (24/30) ab	70% (21/30) ab	53% (16/30) a
'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'	100% (30/30) a	100% (30/30) a	93% (27/30) a	87% (26/30) a	47% (14/30) a
'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria'	100% (30/30) a	87% (26/30) ab	87% (26/30) ab	87% (26/30) ab	33% (10/30) b
'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro'	100% (30/30) a	87% (26/30) ab	87% (26/30) ab	80% (24/30) ab	37% (11/30) a
'Valência Tuxpan'/Flying Dragon'	100% (30/30) a	80% (24/30) ab	77% (23/30) bc	73% (21/30) ab	37% (11/30) a
'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008	100% (30/30) a	80% (24/30) ab	77% (23/30) bc	73% (21/30) ab	43% (13/30) a
'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S'	100% (30/30) a	67% (20/30) b	67% (20/30) c	67% (20/30) b	50% (15/30) a
χ^2	-	312,89	271,57	199,82	14,28
Df	-	6	6	6	6
p	-	<0,0001	<0,0001	0,0000	0,00015

Formas de onda: (C) penetração intercelular no parênquima, (E1) salivação no floema, (E2) ingestão no floema, (E>10 min) alimentação sustentada por mais de 10 minutos, (G) ingestão no xilema. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente, por meio do teste qui-quadrado (χ^2 , $p > 0,05$).

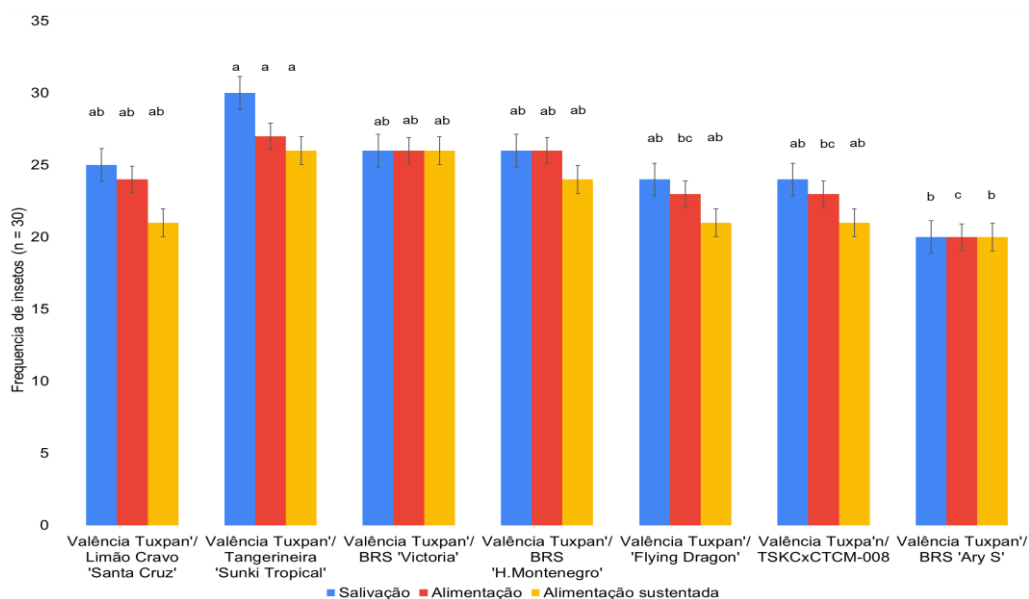
Após a prova inicial, observou-se variação significativa na proporção de insetos que realizaram salivação (E1), comportamento essencial para o acesso ao conteúdo do floema ($\chi^2 = 312.89$, $df = 6$, $p < 0,001$). De acordo com a análise de comparações múltiplas, o genótipo 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' apresentou a menor proporção (67%), agrupando-se isoladamente em um grupo estatístico, sugerindo ser o menos favorável para a salivação do inseto (Tabela 2). Por outro lado, todos os insetos testados no genótipo 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' apresentaram essa forma de onda, indicando maior atratividade e/ou facilidade de acesso ao floema por *D. citri*. Os genótipos 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria' e 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' apresentaram valores de 87%. Para 'Valência Tuxpan'/'TSKCxCTCM-008' e 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon', essa proporção foi de 80%, não diferindo estatisticamente do controle 'Valência

Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (83%), mas indicando um possível comportamento de preferência moderada (Tabela 2).

A salivação é fundamental para que o inseto modifique o ambiente do tecido e facilite a ingestão do alimento, além de ativar as defesas contra os herbívoros. A menor proporção de insetos na fase de salivação encontrada para algumas combinações testadas pode indicar a presença de fatores que dificultam ou inibem essa etapa, refletindo inadequação do tecido vegetal para o inseto (Apriliana, 2023; Gao *et al.*, 2023; George *et al.*, 2018; George *et al.*, 2022).

Comportamento semelhante foi observado na etapa seguinte, ou seja, para a ingestão da seiva floemática (E2). Novamente, a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' apresentou a menor proporção de insetos que se alimentaram (67%, $\chi^2 = 271,5$, $df = 6$, $p < 0,001$), juntamente com 'Valência Tuxpan'/Flying Dragon' e 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 (Tabela 2, Figura 3). 'Valência Tuxpan'/Sunki Tropical' apresentou a maior proporção de insetos nessa fase (93%), contudo não diferiu de 'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz', 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' e de 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria'. Esse comportamento pode indicar suscetibilidade à *D. citri* por favorecer a colonização pelo inseto.

Figura 3 - Frequência absoluta (n = 30) de adultos de *Diaphorina citri* que apresentaram comportamento de salivação, alimentação e alimentação sustentada (> 10 min) em *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertada em sete porta-enxertos diferentes. As barras seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, por meio do teste qui-quadrado (χ^2 , $p > 0,05$).



Em relação aos insetos que efetivamente se alimentaram, ou seja, que mantiveram alimentação sustentada ($E2 > 10$ min), também foram identificadas diferenças importantes entre as combinações. Assim, a copa 'Valência Tuxpan' enxertada em 'Sunki Tropical' e em BRS 'Ary S' apresentaram o maior e menor valor para essa variável, respectivamente (Tabela 2, Figura 3). Esses resultados indicam que, embora todos os genótipos possibilitem a inserção dos estiletes nos tecidos foliares, nem todos proporcionam condições favoráveis para uma alimentação prolongada, o que é decisivo para a sobrevivência e reprodução do inseto, bem como para a eficiência na transmissão de patógenos (Carmo-Sousa *et al.*, 2020; Cen *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2015; Wu *et al.*, 2015).

Em relação número de eventos, não foram constatadas diferenças entre as combinações avaliadas para os eventos de np, C, E1, E2 e $E2 > 10$ min. Contudo, para a ingestão de xilema (G), a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' apresentou menor número de acessos, diferindo significativamente das demais combinações ($0,53 \pm 0,16$, $\chi^2 = 4,55$, $df = 6$, $p = 0,009$) (Tabela 3). Importante destacar que, embora nenhum tratamento tenha sido estatisticamente significativo ao nível de 5% para número de eventos de alimentação (E2), 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' apresentou forte tendência de propiciar mais eventos de ingestão floemática, com número 53% maior do que aquele observado para 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' (Tabela 3).

Para a duração de cada fase, observou-se diferença significativa no tempo em que o inseto permaneceu com os estiletes inativos (fase np). O menor tempo foi observado em 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria' ($t = 155,04$ min; $\chi^2 = 7,16$, $df = 6$, $p = 0,001$) (Tabela 3). A maior duração dessa fase foi registrada nas combinações 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' ($t = 292,24$ minutos), 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' ($t = 263,99$ min) e 'Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008 ($t = 252,79$ min) (Tabela 3).

Diferenças também foram detectadas no tempo total de alimentação floemática (fase E2) e na duração da alimentação sustentada ($E2 > 10$ min), com os menores tempos registrados na combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' ($t = 96,87$ min e $t = 87,31$ min; $\chi^2 = 1326,3$, $df = 6$, $p = 0,008$ e $\chi^2 = 1404,5$, $df = 6$, $p = 0,011$, respectivamente) (Tabela 3). Por outro lado, os maiores tempos foram observados na combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria' ($t = 237,75$ min e $t =$

222,50 min). Não foram observadas diferenças significativas para as outras combinações.

Tabela 3 - Médias (\pm erro padrão) dos números e duração das formas de onda geradas pela alimentação de fêmeas de *Diaphorina citri* em mudas de copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' enxertada em sete porta-enxertos, monitorados por oito horas, em teste de EPG (n = 30).

Combinações copa e porta-enxerto	Número das formas de onda					
	np	C	E1	E2	E2 >10 min	G
'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'	4,33 \pm 0,47a	6,57 \pm 0,79	1,93 \pm 0,34a	1,53 \pm 0,28a	1,1 \pm 0,18a	1,1 \pm 0,31a
'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'	5,80 \pm 0,58a	8,27 \pm 0,86a	2,33 \pm 0,36a	1,73 \pm 0,20a	1,33 \pm 0,15a	1,03 \pm 0,31a
'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria'	4,63 \pm 0,54a	6,13 \pm 0,81a	1,57 \pm 0,22a	1,37 \pm 0,16a	1,20 \pm 0,13a	0,80 \pm 0,30a
'Valência Tuxpan'/BRS 'H.Montenegro'	5,27 \pm 0,47a	6,63 \pm 0,67a	1,67 \pm 0,21a	1,5 \pm 0,18a	1,23 \pm 0,17a	0,53 \pm 0,16b
'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon'	4,93 \pm 0,44a	6,33 \pm 0,62a	1,47 \pm 0,22a	1,23 \pm 0,20a	1,13 \pm 0,18a	0,80 \pm 0,24a
'Valência Tuxpan'/'TSKCxCTCM -008	5,70 \pm 0,72a	7,83 \pm 1,10a	1,87 \pm 0,32a	1,67 \pm 0,26a	1,20 \pm 0,17a	1,07 \pm 0,34a
'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S'	5,20 \pm 0,48a	7,07 \pm 0,83a	1,53 \pm 0,29a	1,13 \pm 0,18a	0,87 \pm 0,14a	1,17 \pm 0,33a
χ^2	10,11	6,23	8,99	6,05	3,50	4,55
Df	6	6	6	6	6	6
p	0,120	0,398	0,174	0,417	0,744	0,009*
	Duração (em minutos) das formas de onda					
	np	C	E1	E2	E2 >10 min	G
'Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz' (controle)	220,78 \pm 25,80ab	68,13 \pm 10,81a	2,36 \pm 0,43a	165,05 \pm 29,27ab	142,28 \pm 27,79ab	22,95 \pm 8,76a
'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'	209,12 \pm 21,26ab	70,44 \pm 9,65a	2,81 \pm 0,25a	184,59 \pm 24,18ab	157,31 \pm 21,36ab	12,18 \pm 4,82a
'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria'	155,04 \pm 20,76b	73,35 \pm 16,24a	2,07 \pm 0,37a	237,75 \pm 27,09a	222,50 \pm 26,48a	11,15 \pm 5,49a
'Valência Tuxpan'/'BRS 'H.Montenegro'	263,99 \pm 22,15a	56,02 \pm 6,51a	2,28 \pm 0,46a	143,79 \pm 25,12ab	123,91 \pm 23,10ab	11,31 \pm 3,57a

'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon'	224,13±25,05ab	64,37±8,13a	3,18±1,06a	172,36±25,86ab	149,72±24,72ab	15,31±5,85a
'Valência Tuxpan'/'TSKCxCTCM -008	252,79±22,95a	72,80±11,51a	2,27±0,44a	135,96±24,60ab	116,25±23,54ab	16,05±4,92a
'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S'	292,24±24,88a	66,13±10,48a	1,91±0,45a	96,87±20,63b	87,31±19,87b	22,28±6,31a
χ^2	7,16	1,51	5,59	22,10	23,40	8,71
Df	6	6	6	6	6	6
p	0,001*	0,916	0,661	0,008*	0,011*	0,644

* Formas de onda: (np) não prova, (C) penetração intercelular no parênquima, (E1) salivagem no floema, (E2) ingestão no floema, (E>10 min) alimentação sustentada por mais de 10 minutos, (G) ingestão no xilema. Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem significativamente usando o GLM Poisson para número e GLM Gamma para tempo; e comparações entre as combinações pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

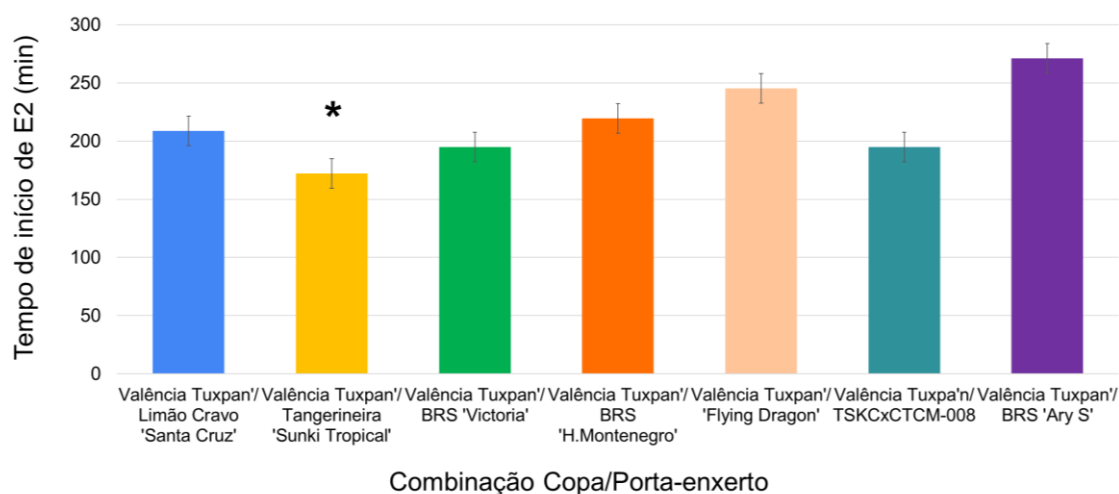
Esses achados são altamente relevantes para a compreensão da interação planta-inseto-patógeno, pois as fases E2 e E2 sustentada estão diretamente associadas à eficiência de transmissão da bactéria *Ca. Liberibacter asiaticus*. Estudos anteriores indicam que a transmissão pode ocorrer após 15 a 60 minutos de alimentação no floema, sendo que períodos superiores a 15 minutos de E2 sustentada são considerados críticos para garantir a infecção (Ammar *et al.*, 2016; Ammar *et al.*, 2020; Bonani *et al.*, 2010).

Uma observação interessante foi uma alta proporção de insetos (50%) e número de acessos ($n = 1,17$) ao xilema observada pela combinação 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' em relação às demais combinações, mesmo sem apresentar diferença significativa (Tabelas 2 e 3). Por outro lado, a combinação 'Valência Tuxpan'/'BRS 'H. Montenegro' apresentou o menor número de eventos em relação ao xilema ($n = 0,53$, $\chi^2 = 4,55$, $df = 6$, $p = 0,009$).

Esses resultados são relevantes, uma vez que o acesso ao xilema pode representar uma via alimentar alternativa para o inseto, especialmente quando o floema apresenta alguma restrição ao seu acesso, como características estruturais ou químicas (George *et al.*, 2017; George *et al.*, 2018; Pacheco *et al.*, 2020; Shugart *et al.*, 2019). Esse comportamento (maior frequência e número de acesso ao xilema) de 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S', associado ao comportamento de menor proporção de acesso ao floema, pode indicar características de resistência relatados pelos estudos anteriores.

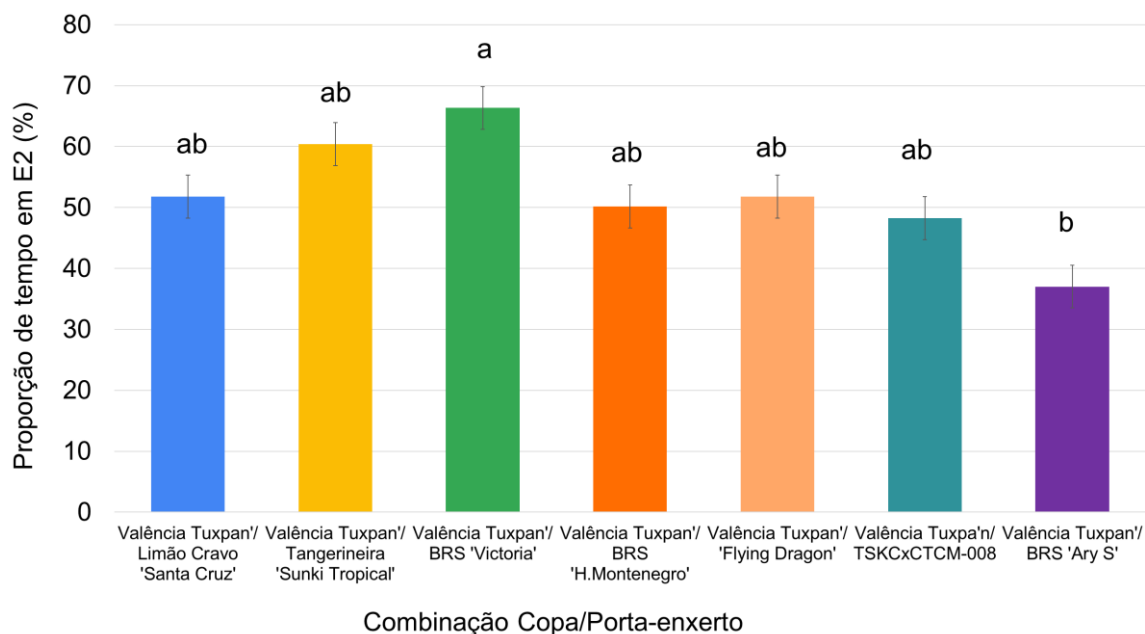
Para o tempo de início da alimentação floemática, 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' iniciou a alimentação significativamente mais rápido (37% mais rápido, $\beta = -0,45 \pm 0,19$, $t = -2,30$, $p = 0,022$) em relação à 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S'', sugerindo maior facilidade para o vetor acessar o floema (Figura 4).

Figura 4 - Tempo de início de alimentação do floema (Fase E2) de *Diaphorina citri* em relação a combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos, pela técnica de EPG (n = 30). *Diferença significativa, pelo modelo GLM Gamma ($p < 0,05$).



'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' apresentou, ainda, proporção significativamente menor do tempo gasto em alimentação comparado às outras combinações (37%, $\chi^2 = 6,31$, $df = 6$, $p = 0,048$). Por outro lado, 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria' apresentou-se como a combinação em que foi registrada a maior proporção de tempo gasto na alimentação (66,33%). As demais combinações estão no grupo intermediário, ou seja, não diferiram significativamente dos demais grupos (Figura 5). O menor tempo relativo de alimentação em 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' reforça a hipótese de que essa combinação é menos favorável para a alimentação prolongada do inseto, indicando possível resistência por antixenose.

Figura 5 - Proporção de tempo gasto com alimentação floemática de *Diaphorina citri* em relação a combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos, pela técnica de EPG (n = 30). As barras seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, pelo modelo GLM Binomial ($p > 0,05$).



Uma análise geral do comportamento alimentar de *D. citri* nas diferentes combinações de 'Valência Tuxpan' revelou diferenças significativas entre as combinações, sugerindo a existência de mecanismos de resistência associados à combinação de copa e porta-enxertos de citros testados. 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' e 'Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria' apresentaram maior adequação para a alimentação do inseto. Essas combinações exibiram maior número de eventos de salivação (fase E1) e de ingestão floemática (fase E2), menor tempo até o início da alimentação, bem como tempos prolongados de alimentação sustentada. Esses dados reforçam a hipótese de que há variação significativa no grau de suscetibilidade entre os genótipos de citros, com implicações diretas no risco de disseminação do HLB no campo (Tabela 4).

Tabela 4 - Síntese integrada de desempenho por combinações da copa *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' e sete porta-enxertos em relação ao comportamento alimentar de *Diaphorina citri*, pela técnica de EPG (n = 30).

Comportamento alimentar	VT/LCSC	VT/Sunki	VT/Victoria	VT/Montenegro	VT/FD	VT/CTCM-008	VT/ARY S
Acesso ao xilema	○	▼	▼▼	▼▼	▼	▼	▼▼
Salivação floema	○	▲▲	▲▲	○	○	○	▼▼
Ingestão floema	○	▲	○	○	○	▲	▼
Alim. sustentada	▲	▲▲	▲▲	○	▲	○	▼▼
Início alimentação	○	▼▼	▲	○	○	○	▲▲
Proporção de tempo alimentação	○	○	▲	○	○	○	▼

Legenda: ▼▼ = Supressão forte ($p < 0,01$), ▼ = Supressão moderada ($p < 0,05$), ▲▲ = Aumento forte ($p < 0,01$), ▲ = Aumento moderada ($p < 0,05$), ▲ = Tendência de aumento ($0,05 < p < 0,10$), ○ = Neutro ($p > 0,10$). Abreviações: VT/LCSC ('Valência Tuxpan'/Limoeiro 'Cravo Santa Cruz'), VT/Sunki ('Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical'), VT/Victoria ('Valência Tuxpan'/BRS 'Victoria'), VT/Montenegro ('Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro'), VT/FD ('Valência Tuxpan'/Flying Dragon'), VT/CTCM-008 ('Valência Tuxpan'/TSKCxCTCM-008) e VT/ARY S ('Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S')

Em contrapartida, 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' destacou-se por apresentar os menores valores em diversos parâmetros críticos associados à alimentação floemática do inseto. Foi observado menor número de eventos de ingestão no floema (fase E2), menor tempo de alimentação sustentada ($E2 > 10$ min), maior tempo até o início da alimentação no floema, bem como a menor proporção de tempo total gasto em alimentação (Tabela 4). Esses resultados sugerem a ocorrência de mecanismos de resistência do tipo antixenose, antibiose ou impedância anatômica no floema, como possíveis espessamentos de parênquima ou de camadas esclerenquimáticas, que dificultam a fixação prolongada do estilete e o acesso contínuo à seiva floemática. Mecanismos semelhantes têm sido descritos em espécies de plantas que resistem à alimentação de insetos vetores (George *et al.*, 2017; George; Lapointe, 2019; Sun *et al.*, 2018).

Tais características são fundamentais para reduzir a eficiência de aquisição e inoculação das bactérias CLas, associadas ao HLB, cuja transmissão está diretamente associada à maior frequência e duração da ingestão no floema e à

alimentação sustentada (Ammar *et al.*, 2016; Carmo-Souza *et al.*, 2020; George *et al.*, 2018).

Há poucos relatos sobre a influência das diferentes combinações copa e porta-enxerto no comportamento alimentar de *D. citri*. Aprilana *et al.* (2023) comparando o comportamento de alimentação de *D. citri* em plantas cítricas enxertadas (*Citrus sinensis* × tangerineira) e tangerineiras não enxertadas, verificaram maior duração de ingestão no floema na planta enxertada. Eles observaram que para as plantas não enxertadas, houve maior duração das fases de salivação (E1) e não-sondagem (np), indicativos de dificuldade no acesso ao floema. Os autores inferiram que a enxertia em citros modula a morfologia, a anatomia e o perfil bioquímico das plantas, tornando-as mais ou menos favoráveis à alimentação de *D. citri* no floema. Portanto, é necessária uma seleção criteriosa de porta-enxertos para que se possa elaborar estratégias de redução do risco de transmissão do HLB.

Em estudo sobre consumo alimentar de *D. citri* em diferentes variedades de citros, Alves *et al.* (2018) observaram preferência pela variedade copa laranja cv. 'Valência' quando comparado com tangerineira Ponkan e limoeiro Siciliano. Porém, quando comparada somente a copa 'Valência' enxertada em tangerineira 'Sunki' e Limoeiro 'Cravo', nenhuma diferença foi observada no consumo do psilídeo. Os autores inferiram que as variedades de laranja doce podem apresentar fagoestimulantes e composição nutricional mais adequada ao inseto, o que justifica esse comportamento de maior consumo de seiva em relação as outras variedades de copas de citros (Alves *et al.*, 2018).

Sétamou *et al.* (2016) demonstraram que a qualidade físico-química dos brotos cítricos influencia diretamente o comportamento alimentar e reprodutivo de *D. citri*. No estudo, brotos jovens de toranjeira (*Citrus paradisi* Macfad., cv. 'Rio Red') e limoeiro (*C. limon* [L.] Burm., cv. 'Meyer') apresentaram concentrações mais elevadas de aminoácidos essenciais, como fenilalanina, triptofano e treonina, além de maior razão carbono: nitrogênio (C: N), o que foi associado à maior atratividade, alimentação prolongada no floema e oviposição do psilídeo. Essas características nutricionais, associadas a tecidos menos lignificados, criam um ambiente fisiológico propício ao desenvolvimento do inseto. Em contraste, brotos mais maduros, com lignificação progressiva e menor qualidade nutricional, foram significativamente

menos explorados, reforçando a importância das barreiras estruturais e químicas internas no controle do vetor.

Ao relacionarmos esses achados com os dados deste trabalho, observa-se que a combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' apresentou comportamento similar ao das brotações jovens descritas por Sétamou *et al.* (2016), com *D. citri* exibindo tempos mais longos de alimentação sustentada no floema. Isso sugere que o porta-enxerto 'Sunki Tropical' pode favorecer o acúmulo de compostos nitrogenados e reduzir defesas estruturais, tornando o floema mais acessível e nutritivo ao inseto.

Diferenças no comportamento alimentar de *D. citri* entre genótipos de citros também foram observados por Shugart *et al.* (2019). Efeito significativo no comportamento de sondagem de *D. citri* em genótipos de tangerineira (*Citrus reticulata* Blanco), Pomelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) e híbridos de *Citrus reshni* Hort. ex Tanaka e *Citrus ichangensis* Swingle, enxertadas em citrange Carrizo, mostraram menor frequência e duração das fases de alimentação do floema em algumas combinações de pomelo e tangerineira, indicando maior resistência. Os pesquisadores observaram variações significativas em oito metabólitos, os quais foram correlacionados aos diferentes níveis de resistência ou suscetibilidade ao inseto: alguns monoterpenos e sesquiterpenos (como o limoneno, β -mirceno) e compostos fenólicos que podem atuar como deterrentes ou tóxicos ao inseto, como ácidos cafeico, *p*-coumarico, ácido vanílico, hesperidina, naringina. Esses metabólitos foram apontados como candidatos-chave para a modulação do comportamento alimentar do psílídeo.

Para confirmar se os tratamentos analisados neste trabalho utilizam de alguns desses mecanismos de resistência, recomenda-se a quantificação por metabolômica (LC-MS ou GC-MS) de compostos como ácidos fenólicos e flavonoides nas combinações testadas, correlacionando suas concentrações com padrões de alimentação observados por EPG. Isso reforçaria o papel dessas moléculas na defesa floemática contra o vetor do HLB.

Curiosamente, a combinação 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' apresentou um perfil químico caracterizado pela abundância de compostos orgânicos voláteis que favoreceram a colonização de *D. citri*, tanto para abrigo quanto para oviposição, demonstrados nos capítulos 1 e 2 desta tese. Em contraste com esse perfil atrativo, os resultados da análise de EPG revelaram que *D. citri* apresentou menor

alimentação sustentada do floema nessa mesma combinação, indicando possível resistência por antixenose ao floema após a herbivoria.

Este contraste remete aos achados de George e Lapoint (2019), nos quais a exposição de plantas cítricas ao ácido fórmico induziu vias de defesa associadas regulação positiva de genes relacionados ao ácido salicílico (como os genes WRKY22, PAL1 e EDS1), resultando em menor ingestão de floema sem interferir diretamente na oviposição ou na atração inicial dos adultos. Assim, é possível que a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' apresente defesas floemáticas ativadas de forma constitutiva ou rapidamente induzidas pela herbivoria, semelhantes ao estudo citado. Esses dados reforçam a importância de considerar tanto o perfil químico volátil quanto os mecanismos internos de defesa ao avaliar o potencial de resistência de genótipos cítricos ao vetor do HLB.

Sun *et al.* (2018), investigando 74 genótipos de pimenta em relação ao pulgão-verde-do-pessegueiro (PVG), *Myzus persicae*, observaram que um acesso de *Capsicum baccatum*, PB2013071, foi identificado como altamente resistente. Os pesquisadores observaram que este acesso apresentou redução significativa na ingestão de floema, evidenciada por padrões de EPG, uma vez que os insetos não conseguiram manter alimentação sustentada. A alimentação por *M. persicae* induziu a expressão de genes da calose sintase (CalS1, CalS7 e BGLU, principalmente) e resultou na deposição de calose nos elementos dos vasos floemáticos do acesso resistente PB2013071, mas não no acesso suscetível PB2013046.

Assim como *Capsicum*, a combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S' mostrou menor alimentação sustentada de floema por *D. citri* nos ensaios de EPG, sem afetar a atração inicial. Embora não tenha sido avaliada a formação de calose no presente estudo, é razoável postular que mecanismos de defesa similares estejam operando para dificultar a alimentação de floema.

Em relação a barreiras físicas como mecanismos de resistência à alimentação de *D. citri*, George *et al.* (2017) demonstraram que o anel esclerenquimatoso em torno do floema funciona como uma barreira significativa à alimentação de *D. citri*. Por meio dos registros EPG, verificou-se que folhas mais maduras, com anel fibroso mais espesso, apresentaram duração reduzida da fase E2 (ingestão de floema). Em estudos de Ammar *et al.* (2014), a maior espessura do anel fibroso foi associada à resistência do híbrido Citroncirus UN-3881 à *D. citri* em

comparação a Troyer-1459, suscetível. Neste trabalho, essas evidências anatômicas poderiam explicar os padrões de alimentação observados nas combinações 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' (suscetível) e 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' (resistente).

Com base nos resultados obtidos, observa-se que 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' apresenta um comportamento alimentar distinto em relação ao vetor *D. citri*, evidenciado pela redução significativa na duração da fase E2 (alimentação floemática) em comparação com o controle 'Valência Tuxpan'/'Limoeiro Cravo 'Santa Cruz' e outras combinações. Especificamente, a duração da fase E2 foi 59,49% menor que em 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria' e Valência Tuxpan'/'BRS 'H. /Montenegro' e 42% inferior ao controle. Além disso, a fase alimentação sustentada foi 60,81% mais curta que outras combinações testadas, indicando uma possível resistência floemática que impede a alimentação efetiva do vetor.

Em conjunto, os dados reforçam que a resistência ao vetor é multifatorial e não pode ser inferida apenas com base na atratividade inicial. A capacidade da planta em limitar o acesso ao floema, etapa crítica para a transmissão de CLas, parece ser determinante para a resistência efetiva ao HLB (George *et al.*, 2017; George; Lapointe, 2019; Shugart *et al.*, 2019; Walker; Fereres; Tjallingii, 2024; Zheng *et al.*, 2023).

Com base nesses dados, sugere-se que investigações futuras avaliem possíveis mecanismos de resistência à alimentação de *D. citri*, como deposição de calose e a expressão de genes associados à biossíntese de barreiras floemáticas, a fim de confirmar a base fisiológica da resistência observada por EPG.

4. CONCLUSÕES

O comportamento alimentar de *Diaphorina citri* é significativamente influenciado pela combinação entre copa e porta-enxerto dos citros.

A combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' revelou-se favorável à alimentação do vetor, com maior número de acessos ao floema; enquanto 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' indicou a possível presença de mecanismos de resistência floemática, com menor proporção de insetos que acessaram o floema e menor tempo de ingestão floemática.

Esses resultados reforçam que o manejo do Huanglongbing (HLB) depende de múltiplos fatores, envolvendo não apenas a atratividade inicial da planta, mas também sua capacidade de limitar o acesso prolongado ao floema, etapa crucial para a aquisição e transmissão do patógeno.

5. REFERÊNCIAS

ALVES, G. R.; BELOTI, V. H.; FAGGIONI-FLORIANO, K. M.; DE CARVALHO, S. A.; MORAL, R. de A.; DEMÉTRIO, C. G. B.; PARRA, J. R. P.; YAMAMOTO, P. T. Does the scion or rootstock of Citrus sp. affect the feeding and biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)? **Arthropod-Plant Interactions**, v. 12, n. 1, p. 77–84, 2018.

AMMAR, E. D.; RICHARDSON, M. L.; ABDO, Z.; HALL, D. G.; SHATTERS, R. G. Differences in stylet sheath occurrence and the fibrous ring (sclerenchyma) between Citroncirus plants relatively resistant or susceptible to adults of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, 2014.

APRILIANA, Y.; SOFFAN, A.; SITI SUBANDIYAH, I.; PROD YIJING CEN, A. **Feeding behavior of diaphorina citri on grafted and no-grafted citrus with morphology, anatomy, physiology, and biochemicals citrus leaf analysis**. 2023. Disponível em: <<http://etd.repository.ugm.ac.id/>>.

BONANI, J. P.; FERERES, A.; GARZO, E.; MIRANDA, M. P.; APPEZZATO-DAGLORIA, B.; LOPES, J. R. S. Characterization of electrical penetration graphs of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in sweet orange seedlings. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 134, n. 1, p. 35–49, 2010.

BORGONI, P. C.; VENDRAMIM, J. D.; LOURENCÃO, A. L.; MACHADO, M. A. Resistance of Citrus and Related Genera to *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). **Neotropical Entomology**, v. 43, n. 5, p. 465–469, 2014.

CARMO-SOUSA, M.; GARCIA, R. B.; WULFF, N. A.; FERERES, A.; MIRANDA, M. P. Drench application of systemic insecticides disrupts probing behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and inoculation of *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Insects**, v. 11, n. 5, art. 314, 2020.

CEN, Y.; YANG, C.; HOLFORD, P.; BEATTIE, G. A. C.; SPOONER-HART, R. N.; LIANG, G.; DENG, X. Feeding behaviour of the Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri*, on healthy and huanglongbing-infected citrus. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 143, n. 1, p. 13–22, 2012.

FUNDECITRUS. **Estimativa da safra de laranja 2024/25 do cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste Mineiro: cenário em maio**. Relatório, n. ISSN 2446-7715, p. 1–41, 2024.

GAO, J.; TAO, T.; ARTHURS, S. P.; HUSSAIN, M.; YE, F.; MAO, R. Saliva-Mediated Contrasting Effects of Two Citrus Aphid Species on Asian Citrus Psyllid Feeding Behavior and Plant Jasmonic Acid Pathway. **Insects**, v. 14, n. 8, 2023.

GEORGE, J.; AMMAR, E. D.; HALL, D. G.; LAPOINTE, S. L. Sclerenchymatous ring as a barrier to phloem feeding by Asian citrus psyllid: Evidence from electrical penetration graph and visualization of stylet pathways. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1–15, 2017.

GEORGE, J.; AMMAR, E. D.; HALL, D. G.; SHATTERS, R. G.; LAPOINTE, S. L. Prolonged phloem ingestion by *Diaphorina citri* nymphs compared to adults is correlated with increased acquisition of citrus greening pathogen. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–11, 2018.

GEORGE, J.; KANISSERY, R.; BASHYAL, M.; TAMAYO, B.; STELINSKI, L. L. Survival and Feeding Behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) Adults on Common Cover Crops in Citrus. **Agriculture**, v. 12, n. 12, 2022.

GEORGE, J.; LAPOINTE, S. L. Host-plant resistance associated with *Poncirus trifoliata* influence oviposition, development and adult emergence of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Pest Management Science**, v. 75, n. 1, p. 279–285, 2019.

GOTTWALD, T. R.; HALL, D. G.; BEATTIE, G. A. C.; ICHINOSE, K.; NGUYEN, M. C.; LE, Q. D.; BAR-JOSEPH, M.; LAPOINTE, S.; STOVER, E.; PARKER, P. E.; MCCOLLUM, G.; HILF, M. E. Investigations of the Effect of Guava as a Possible Tool in the Control/Management of Huanglongbing. **International Organization of Citrus Virologists Conference Proceedings (1957-2010)**, v. 17, n. 17, 2010.

NAVA, D. E.; TORRES, M. L. G.; RODRIGUES, M. D. L.; BENTO, J. M. S.; PARRA, J. R. P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, v. 131, n. 9–10, p. 709–715, 2007.

SARRIÁ, E.; CID, M.; GARZO, E.; FERERES, A. Workbook for automatic parameter calculation of EPG data. **Comput. Electron. Agric**, v. 67, p. 35–42. 2009.

SÉTAMOU, M.; SIMPSON, C. R.; ALABI, O. J.; NELSON, S. D.; TELAGAMSETTY, S.; JIFON, J. L. Quality matters: Influences of citrus flush physicochemical characteristics on population dynamics of the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae). **PLoS ONE**, v. 11, n. 12, 2016.

SHUGART, H.; EBERT, T.; GMITTER, F.; ROGERS, M. The power of electropenetrography in enhancing our understanding of host plant-vector interactions. **Insects**, v. 10, n. 11, 2019.

SKELLEY, L. H.; HOY, M. A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, v. 29, n. 1, p. 14–23, 2004.

SUN, M.; VOORRIPS, R. E.; STEENHUIS-BROERS, G.; VAN'T WESTENDE, W.; VOSMAN, B. Reduced phloem uptake of *Myzus persicae* on an aphid resistant pepper accession. **BMC Plant Biology**, v. 18, n. 1, 2018.

WALKER, G. P.; FERERES, A.; TJALLINGII, W. F. **Guidelines for conducting, analyzing, and interpreting electrical penetration graph (EPG) experiments on herbivorous piercing–sucking insects**, John Wiley and Sons Inc, 2024.

WESTBROOK, C. J.; HALL, D. G.; STOVER, E.; DUAN, Y. P.; LEE, R. F. Colonization of Citrus and Citrusrelated germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **HortScience**, v. 46, n. 7, p. 997–1005, 2011.

WU, F.; CEN, Y.; DENG, X.; CHEN, J.; XIA, Y.; LIANG, G. Movement of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) Adults between Huanglongbing-Infected and Healthy Citrus. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 410–416, 2015.

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, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Programa de Melhoramento Genético de Citros (PMG Citros) da Embrapa Mandioca e Fruticultura trabalha no desenvolvimento de porta-enxerto de citros mediante procedimentos clássicos e biotecnológicos, com características interessantes como tolerância a seca e salinidade, resistência a gomose e tolerância a tristeza, além de perfil ananicante, mas, principalmente, em busca de combinações mais adaptadas ao HLB, a doença mais importante da cultura dos citros na atualidade. O PMG Citros desenvolveu híbridos a partir de cruzamentos envolvendo espécies de *Citrus* e dos gêneros *Poncirus*, que se caracterizam por dificultar a multiplicação da bactéria causadora do HLB, as quais se mostraram promissoras em campo.

Esta tese teve como objetivo geral avaliar a interação entre *D. citri*, vetor do HLB, e combinações da copa comercial de laranjeira doce *Citrus sinensis* cv. 'Valência Tuxpan' em porta-enxertos selecionados pelo PMG Citros, empregando abordagens complementares de bioensaios de olfatométrica, ensaios de preferência e oviposição, análise do comportamento alimentar via EPG e a identificação dos perfis de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs).

As análises de comportamento de atratividade, oviposição e caracterização dos perfis de COVs dos capítulos 1 e 2 demonstraram que os diferentes porta-enxertos modulam de forma significativa a atratividade de *D. citri* à copa de *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan'. Os resultados revelaram que 'Valência Tuxpan'/Tangerineira 'Sunki Tropical' reduziu significativamente a atratividade do psíldeo, a incidência de adultos nas plantas e tendência de menor oviposição, correlacionadas à maior concentração de sesquiterpenos germacreno D, [(*E,E*)- α -farneseno] e a presença de homoterpenos DMNT, TMTT.

A combinação 'Valência Tuxpan'/BRS 'H. Montenegro' destacou-se por seu *blend* químico mais diversificado, incluindo β -cariofileno, neral e camphor, funcionalmente reconhecidos como mediadores de interações planta-inseto, o que pode estar relacionada com o padrão bifásico de resistência por antixenose com a menor atratividade observada nos bioensaios de olfatométrica, a maior redução significativa no número de insetos migrantes, com forte deterrência à oviposição. Sugerimos ainda a possibilidade da presença de quimiorrepelentes de contato para inibição de oviposição e outras estruturas de resistência por antixenose como

presença de defesas físicas e morfológicas (tricomas, cera, espessura, dureza), as quais deverão ser investigadas em etapa posterior.

O porta-enxerto *Poncirus trifoliata* 'Flying Dragon' é reconhecido como não favorável à colonização e como possível fonte de resistência ao psíldeo pela literatura. Porém, curiosamente nossos dados revelaram que a combinação 'Valência Tuxpan'/'Flying Dragon' não apresentou efeito repelente significativo esperado. A ausência de repelência observada para esta combinação na Bahia, em contraste com os efeitos relatados em outras regiões, pode ser atribuída à modulação edafoclimática do perfil volátil emitido pela copa das plantas. Esses achados reforçam a necessidade de considerar o contexto ambiental na avaliação da eficácia de genótipos resistentes ao vetor do HLB.

A aplicação da técnica de penetração elétrica (EPG) evidenciou diferenças surpreendentes no comportamento alimentar de *D. citri* entre as combinações de copa e porta-enxerto de *C. sinensis* cv. 'Valência Tuxpan'. As combinações 'Valência Tuxpan'/'Tangerineira 'Sunki Tropical' e 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Victoria' apresentaram elevada compatibilidade para alimentação.

Embora a combinação 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' tenha se destacado sendo a menos atrativa nos testes de olfatometria, exibindo menor retenção dos insetos e presença de compostos voláteis potencialmente repelentes, como trans-óxido de limoneno, germacreno D, (*E,E*)- α -farneseno, DMNT e TMTT, relatados no capítulo 1, os registros de EPG revelaram um contraste marcante, com esta combinação apresentando maior duração do período de alimentação em floema (E2 e E2 > 10 min) dentre todas as combinações avaliadas.

Esse paradoxo comportamental pode indicar que, apesar da ação inicial dos voláteis sobre a atração ao inseto, 'Valência Tuxpan'/'Sunki Tropical' não possui barreiras internas efetivas que impeçam o acesso e a ingestão no floema, sugerindo ausência de resistência floemática funcional.

Curiosamente, a combinação 'Valência Tuxpan'/'BRS 'Ary S' apresentou um perfil químico caracterizado pela abundância de compostos orgânicos voláteis (COVs), com destaque para monoterpenos como *D*-limoneno, β -mirceno, sabineno e 3-careno, favorecendo a colonização de *D. citri*, tanto para abrigo quanto para oviposição, demonstrados nos capítulos 1 e 2 desta tese. Em contraste com esse perfil atrativo, os resultados da análise de EPG revelaram que *D. citri* apresentou

menor período de alimentação no floema nessa mesma combinação, indicando possível resistência por antixenose e/ou antibiose.

Estudos relevaram que estresse causado pelo ácido fórmico causou um aumento nas áreas de pico de vários voláteis vegetais, incluindo limoneno, β -ocimeno, citronelal e β -mirceno, o que tornou a planta de citros mais atraente ao inseto, incluindo *Poncirus trifoliata*. Ao mesmo tempo, observaram que houve uma regulação positiva de vários genes associados à defesa da planta, indicando uma ativação dos mecanismos de defesa, levando a alteração no comportamento alimentar do inseto, reduzindo o acesso do inseto ao floema. Estes achados vão ao encontro dos resultados de 'Valência Tuxpan'/BRS 'Ary S', que apresentaram tanto atratividade quanto redução da alimentação em floema.

O contraste entre os resultados do comportamento de atratividade observados nos Capítulos 1 e 2 e do comportamento alimentar do Capítulo 3 é particularmente interessante. Do ponto de vista do manejo integrado do HLB, a inovação deste estudo reside na abordagem multidisciplinar para construir um panorama completo da interação planta-vetor. Ao demonstrar que a resistência ao vetor é multifatorial e que compostos voláteis isolados ou possíveis barreiras de vasos de seiva sozinhas podem ser insuficientes, abre-se caminho para sistemas *push-pull* mais robustos, nos quais cultivares "push" e "pull" sejam selecionados não apenas pela atratividade, mas também pela capacidade de impedir a alimentação contínua em floema.

Este trabalho oferece contribuições substanciais ao melhoramento genético de citros ao revelar combinações de copa e porta-enxerto que não apenas modulam a atratividade inicial de *D. citri* por meio de perfis voláteis diferenciados, mas também apresentam possibilidades de mecanismos de resistências por antixenose efetiva ao acesso e alimentação do vetor.

Para avançar nessa compreensão, futuros estudos são sugeridos: (i) avaliar, em ensaios de campo, o desempenho dessas combinações na redução da densidade de *D. citri*, (ii) confirmar os compostos germacreno D, (*E,E*)- α -farneseno, β -cariofileno, neral, camphor, DMNT e TMTT como marcadores de resistência por antixenose à *D. citri* por meio de armadilhas semioquímicas ou sistemas *push-pull*; (iii) avaliar a influência de variáveis ambientais sobre a expressão gênica de vias terpenóides, incluindo diferentes estações do ano; (iv) identificar e explorar o uso de marcadores moleculares ligados à produção desses compostos repelentes para

acelerar o melhoramento genético de novos porta-enxertos (v) aprofundar a caracterização molecular e anatômica dos mecanismos de resistência subjacentes à antixenose observadas, considerando possíveis defesas induzidas após herbivoria.