

DIAPHORINA CITRI

Efeito dos inseticidas sistêmicos e de contato na aquisição e inoculação de *Candidatus Liberibacter asiaticus* por *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Determinar a eficiência dos inseticidas na prevenção da inoculação e aquisição de *Ca. L. asiaticus* pelo vetor.

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) Amostras foliares e de insetos sendo avaliadas em laboratório;

Resultados: (i) Após 12 meses do confinamento de psilídeos infectivos sobre as plantas tratadas com inseticidas (contato e sistêmico), estas não apresentaram sintomas da doença, nem foram positivas em teste PCR.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Pedro T. Yamamoto (ESALQ/USP)

Aperfeiçoamento da utilização de inseticidas sistêmicos em plantas em produção para o controle de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Estudar os fatores que influenciam a absorção e translocação de inseticidas sistêmicos em plantas cítricas (volume de aplicação; época de aplicação; porta-enxerto; poda);

(ii) Determinar a dose letal dos inseticidas sistêmicos usados na citricultura para controle de *D. citri*;

(iii) Avaliar doses, formas de aplicações, novas moléculas e formulações de inseticidas sistêmicos para o controle de *D. citri*.

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimentos concluídos

Resultados: Nos últimos quatro anos 13 experimentos foram realizados visando estudar os fatores que influenciam na absorção e translocação de inseticidas sistêmicos em plantas adultas (4-8 anos de idade). Nestes, foram avaliadas diferentes formas de aplicação, doses, época, porta-enxerto, tipo de solo e condução do pomar (com e sem poda), sendo que somente um experimento apresentou um residual em torno 60 dias com eficiência acima de 80% no controle de *D. citri*. Em 5 experimentos avaliou-se a concentração de inseticidas, e foi observado que nas plantas com idade mais avançadas o produto não foi translocado para a copa da planta cítrica em concentrações suficientes para causar uma alta mortalidade. Neste tipo de planta os casos positivos foram observados quando a dose e volume de aplicação foram dobrados em relação aos valores recomendados para plantas novas. Novos trabalhos serão iniciados com porta-enxertos "ananicantes".

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Pedro T. Yamamoto (ESALQ/USP)

Efeito de inseticidas sobre o comportamento alimentar de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Avaliar o efeito de inseticidas de diferentes grupos e formas de aplicação em mudas (estufa) e árvores cítricas (campo) sobre o comportamento alimentar de *D. citri*, por meio da técnica de “Electrical Penetration Graphs” (EPG);

(ii) Avaliar novas moléculas (inseticidas) sobre o comportamento alimentar de *D. citri*.

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Resultados do experimento (i) e (ii) sendo analisados;

Resultados: (i-1) Inseticidas sistêmicos em mudas: Foi avaliado o tratamento de mudas cítricas com thiamethoxan e imidacloprid aplicados via “drench”. Observou-se que os inseticidas sistêmicos não interferiram na etapa inicial da penetração estiletar de *D. citri*, sendo que a maioria dos insetos conseguiram iniciar alimentação no floema das plantas tratadas. Porém, nestas plantas o tempo de ingestão de seiva do floema foi drasticamente reduzido (91%) quando comparado com a testemunha e após esse curto período de ingestão (aproximadamente 15 min), o inseto retira os estiletes da planta e raramente realiza uma nova ingestão de seiva do floema. (i-2) Inseticidas sistêmicos plantas no campo: para avaliação de plantas em campo foi desenvolvido uma metodologia onde os ramos foram retirados das plantas e levados ao laboratório sem afetar sua fisiologia. Neste sistema avaliaram-se plantas de 1,5 anos tratadas com Aldicarb. Em geral o comportamento alimentar de *D. citri*, para este grupo químico, foi semelhante ao observado em mudas tratadas com neonicotinóides (thiamethoxan e imidacloprid), porém, neste caso o tempo de ingestão de seiva do floema foi de aproximadamente 40 minutos. (i-3) Inseticidas de contato: Mudas cítricas com folhas expandidas foram pulverizadas com lambda-cialotrina, imidacloprid e dimetoato, mantidas sob condição controladas (sem chuva e emergência de brotações). Realizaram-se avaliações 1, 7, 14 e 21 dias após aplicação. Para os inseticidas imidacloprid e lambda-cialotrina observou-se que *D. citri* realiza provas curtas (1 a 5 min) no mesófilo e retira os estiletes da planta sem realizar atividades no floema. No caso do dimetoato, 20 e 30% dos insetos conseguiram atingir os vasos do floema 15 e 21 dias após aplicação, respectivamente. Contudo quando o mesmo experimento foi realizado em brotações com folhas não expandidas, os insetos foram capazes de atingir os vasos do floema 7 dias após aplicação. (ii) o inseticida Cyantraniliprole, apresenta moderada interferência no comportamento alimentar de *D. citri*, quando aplicado via drench e pulverizado.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Efeito do silício sobre comportamento alimentar de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Avaliar o efeito de plantas tratadas com silício sobre o comportamento alimentar de *D. citri*.

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento concluído

Resultados: Em teste com chance de escolha, onde foram oferecidas aos insetos plantas tratadas com silício via substrato, foliar, substrato + foliar e plantas não tratadas, não se observou diferença na proporção de insetos pousados sobre as plantas dos diferentes tratamentos. Resultados, obtidos por meio da técnica de EPG, também indicaram que plantas tratadas com silício (via substrato + foliar) não interferiram na penetração estiletar de *D. citri*.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Aperfeiçoamento e desenvolvimento de novo método de controle de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Determinar a concentração de inseticidas presentes na seiva do xilema e floema de plantas cítricas e concentração letal a *D. citri*;

(ii) Avaliar o impacto do tratamento de plantas com inseticidas sistêmicos, sobre a transmissão de *Ca. L. asiaticus* por psílídeos em jejum (psílídeos migrantes);

(iii) Determinar a efetividade de telas inseticidas em reduzir a entrada de psílídeos infectivos em áreas que realizam o manejo do HLB.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) não iniciado, área experimental sendo selecionada (previsão dez/2012) e aguardando importação de equipamento; (ii) experimento em avaliação; (iii) finalizado.

Resultados: (ii) experimento em avaliação; (iii) O experimento com telas inseticidas foi finalizado após um ano de coleta de dados no campo. Nas duas fazendas avaliadas (São Manuel e Descalvado) não ocorreu diferença estatística entre áreas com e sem telas inseticidas. Durante o experimento observou-se uma redução de 80% na concentração de inseticidas presentes na tela.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Alberto Ferreres (CSIC - Espanha)

Aperfeiçoamento e desenvolvimento do sistema de pulverização de bordadura de talhões cítricos para o controle de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Determinar qual sistema de pulverização é mais efetivo para ser utilizado na estratégia de controle de *D. citri* direcionado a bordadura;

(ii) Avaliação de inseticidas e volume de pulverização para controle de *D. citri*.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento não realizado por mudança no tema de dissertação da aluna de mestrado.

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Aline B. Monteiro (Mestrado Fundecitrus)

Aperfeiçoamento da pulverização aérea em citros para o controle de *Diaphorina citri*

Objetivos: Avaliar diferentes volumes de calda e faixas de aplicação no controle de adultos de *D. citri* em duas épocas do ano (inverno e verão) por meio de pulverização com aeronave agrícola.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento realizado

Resultados: Foram realizados dois experimentos: no primeiro ocorreu uma grande variabilidade na eficiência de controle (10-100%) dentro dos tratamentos, não sendo possível determinar qual combinação (faixa-volume) foi a mais eficiente. No segundo, ocorreu uma alta mortalidade na testemunha, devido a deriva. Assim, este será realizado novamente.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Thiago R. G. Santos (Mestrado Profissionalizante)

Efeito do óleo mineral sobre a oviposição, comportamento alimentar e residual de inseticidas usados no controle de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Avaliar o efeito do óleo mineral (1%) sobre a oviposição de *D. citri*.

(ii) Avaliar o efeito do óleo mineral (1%) sobre o comportamento alimentar de *D. citri*.

(iii) Avaliar se o óleo mineral (1%) aumenta o residual de inseticidas usados no controle de *D. citri*.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento concluído

Resultados: (i) Por meio de testes com e sem chance de escolha, observou-se que o óleo mineral provoca uma redução na oviposição de 88 e 75%, respectivamente. (ii) Em estudos de semi-campo, por meio de testes com chance de escolha observou-se que o óleo mineral apresenta um efeito repelente sobre *D. citri*, reduzindo em 83% o número de insetos que pousaram sobre as plantas pulverizadas. No teste sem chance de escolha a redução foi de 75%. (iii) Após 1, 7, 14, e 21 dias da aplicação de óleo mineral, observou-se, uma redução na proporção de insetos que conseguiram realizar atividades no floema de 47, 74, 76, 65% respectivamente, contudo os insetos que atingiram o floema conseguira manter uma ingestão prolongada (> 1 hora). (iii) Em condições sem chuva, a adição de óleo mineral (1%) não prolonga o efeito residual dos principais grupos de inseticidas (piretróides, organofosforados e neonicotinóides) usados no controle de *D. citri*. A partir destes resultados, esta sendo elaborado um novo projeto visando avaliar o efeito do óleo mineral no manejo de *D. citri*.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Maria Lia Micelli (Mestrado Fundecitrus)

Avaliação da transmissão transovariana de *Candidatus Liberibacter asiaticus* por *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Avaliar se fêmeas de *D. citri* infectadas com *Ca. L. asiaticus* transmitem a bactéria para sua progênie (transmissão transovariana).

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Em execução, coleta de dados e análise de laboratório

Resultados: Inicialmente foi estabelecida uma metodologia para transferência dos ovos da planta onde foram depositados, possibilitando a continuação de seu ciclo fora do ramo onde foi ovipositado. Esta etapa é fundamental para caracterização da transmissão transovariana. Observou-se que adultos sadios quando ovipositam em plantas infectadas, e as ninfas se desenvolvem nestas, 100% dos adultos já emergem infectados com a bactéria. Por meio desta metodologia foram obtidos 67 psílidos adultos (provenientes de fêmeas infectivas). Estes foram avaliados por meio de qPCR e somente um inseto foi positivo, contudo quando foi realizado um segundo qPCR a amostra foi negativa. Novas amostras estão em avaliação.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Fatores envolvidos na dispersão de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Avaliar os estímulos que levam *D. citri* a sair da planta cítrica;

(ii) Avaliar o efeito de plástico absorvente de UV sobre o voo de *D. citri*;

(iii) Avaliar estratégias de manejo que interfiram sobre o pouso de *D. citri* em pomares recém implantados.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: (i) e (iii) não foram realizados por motivo de desistência da bolsista de pós doc; Parte deste trabalho foi submetido a Fapesp, para pedido de um novo bolsista (ii) finalizado.

Resultados: (ii) O plástico UV foi bastante efetivo em reduzir a dispersão de *D. citri* em condições de estufa. Em geral (média de dois experimentos) plástico UV ocasionou uma redução de 90% na capacidade de *D. citri* em encontrar plantas cítricas.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Saioa Legarrea (Pós Doc)

Voláteis de plantas repelentes (goiabeiras) para o manejo de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Estudar as alterações comportamentais em *D. citri* promovidas por voláteis de plantas repelentes ou inibidores;

(ii) Conhecer os compostos químicos majoritários, repelentes, presentes na mistura de voláteis de plantas repelentes;

(iii) Comparar os perfis de voláteis de diferentes variedades de goiabeiras;

(iv) Estudar os efeitos de extratos naturais inibidores no comportamento de *D. citri*.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Após a confirmação dos efeitos repelentes promovidos por goiabeiras, a composição química dos voláteis de tais plantas foi estudada. Além disso, foram comparadas as principais características de três variedades distintas de goiabeiras, contendo diferentes perfis cromatográficos. Os bioensaios em olfátômetro referentes a tal etapa encontram-se em desenvolvimento. Métodos mais eficientes de extração de voláteis foram desenvolvidos (ex. extração de conteúdo).

Resultados: (i) Os voláteis de goiabeiras são capazes de interferir na orientação olfativa de *D. citri* às plantas cítricas em laboratório na ordem de 75-80% das respostas dos insetos. (ii) A partir do método de extração do conteúdo celular foi possível melhor compreender os perfis de voláteis presentes nas plantas estudadas, bem como conhecer os compostos majoritários (tC; aH; aC). (iii) O perfil dos voláteis de distintas variedades de goiabeiras e araçás possibilitou a seleção de duas goiabeiras e uma araçá contendo características interessantes para a comparação, bem como compreensão do comportamento de *D. citri* frente a tais perfis. (iv) O uso de extratos naturais mostrou-se inviável nas condições experimentais, sendo substituídos por diferentes variedades de goiabeiras "in natura" (bioensaios em andamento).

Pesquisador e Instituição Líder: Newton C. Noronha Jr - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Nelson Arno Wulff (Fundecitrus), Paulo H. G. Zarbin (UFPR) e Leandro Peña (IVIA - Espanha)

Respostas olfativas de *Diaphorina citri* aos compostos químicos (sintéticos) de goiabeiras

Objetivos: (i) Investigar isoladamente o efeito dos compostos sintéticos encontrados nos voláteis de plantas;

(ii) Verificar as respostas comportamentais de *D. citri* à diferentes doses dos compostos;

(iii) Estudar a ação de diferentes combinações dos compostos à *D. citri*;

(iv) Verificar a existência de efeito sinérgico nas misturas de compostos; (v) Desenvolver métodos mais eficazes para a extração e análise da composição química das folhas e emissão de voláteis.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Três compostos majoritários presentes nos voláteis de goiabeiras foram testados individualmente e em diferentes combinações e doses. A interpretação dos resultados encontra-se em andamento, com previsão de término em 15/10/2012.

Resultados: (i), (ii) e (iii) Os diferentes compostos estudados podem promover alterações no comportamento de *D. citri* de forma distinta, dependendo do produto, dose e combinação. Até o presente, sabe-se que estas alterações implicaram principalmente na inibição da atividade dos insetos, principalmente em função de doses acima de 1µL. (iv) Até o momento não foram observadas evidências de efeito sinérgico dos produtos testados, entretanto há necessidade de análise e interpretação detalhadas dos resultados mais recentes. (v) diferentes métodos de extração de sintéticos estão em andamento, como a recuperação dos compostos em polímero Hays Sep, permitindo a compreensão da quantidade de produto liberada nas condições experimentais.

Pesquisador e Instituição Líder: Newton C. Noronha Jr. - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Paulo H. G. Zarbin (UFPR) e Leandro Peña (IVIA - Espanha)

Papel dos voláteis de citros com HLB, infectado por *Ca. L. asiaticus*, no comportamento de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Elucidar os fatores envolvidos no efeito atrativo dos voláteis de citros com HLB à *D. citri*;

(ii) Conhecer a composição dos voláteis de plantas infectadas sintomáticas;

(iii) Comparar os perfis de voláteis de plantas não infectadas com plantas sintomáticas.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Projeto em andamento, entretanto desenvolvido em menor prioridade em função dos estudos com plantas GM, foco principal das pesquisas no momento.

Resultados: (i) Testes em olfatômetro apontam atratividade dos psíldeos para voláteis de plantas infectados, havendo fortes indícios de ação química. (ii) A composição dos voláteis produzidos por plantas infectadas por *Ca.L.asiaticus* (com HLB) foi conhecida, entretanto são necessárias algumas repetições. (iii) Diferenças foram encontradas nos perfis químicos de plantas sintomáticas em comparação a plantas não infectadas.

Pesquisador e Instituição Líder: Newton C. Noronha Jr. - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda e Nelson A. Wulff (Fundecitrus)

Alterações comportamentais de *Diaphorina citri* frente aos voláteis de plantas geneticamente modificadas (GM)

Objetivos: (i) Validar o uso de plantas modelo *Arabidopsis thaliana* na expressão gênica de voláteis repelentes à *D. citri*;

(ii) Estudar os efeitos dos voláteis de plantas modelo e de plantas cítricas geneticamente modificadas (GM) no comportamento de *D. citri*;

(iii) Analisar composição química de plantas modificadas, bem como seus perfis de voláteis.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: Métodos de avaliação da ação dos voláteis de plantas GM no comportamento de *D. citri* foram validados em *Arabidopsis*. Novos testes com plantas de citrus GM em andamento. Testes com novas construções de *Arabidopsis* em citros GM em fase inicial (Nova etapa)

Resultados: (i) Validação de duas espécies de plantas modelo (*Arabidopsis* e soja) a ser utilizadas em estudos de emissão de voláteis; (ii) Seleção de 8 (oito) diferentes construções de *Arabidopsis* GM como fonte de repelência para *D. citri*. (iii) Primeiros resultados obtidos quanto à composição química das plantas repelentes constituídas por dois compostos majoritários de goiabeiras.

Pesquisador e Instituição Líder: Newton C. Noronha Jr. - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Nelson Arno Wulff (Fundecitrus), Paulo H. G. Zarbin (UFPR) e Leandro Peña (IVIA - Espanha)

Métodos alternativos de aplicação de inseticidas sistêmicos no controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) em citros, *Citrus sinensis* (L.)Osbeck

Objetivos: (i) Buscar por melhorias na aplicação de inseticidas sistêmicos;
(ii) Elaborar estratégias para aumentar o período de proteção das plantas cítricas à *D. citri*.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Dissertação de Mestrado. Experimentos de campo concluídos. Projeto em fase de análise dos dados e escrita da dissertação.

Resultados: Vide "observações sobre a situação do projeto".

Pesquisador e Instituição Líder: Newton C. Noronha Jr. - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Marco A. R. Tonhão (Mestrado Fundecitrus), Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Estudo de inseticidas mais adequados e seletivos para o controle de *D. Citri*

- Objetivos:** (i) Otimização da criação de inimigos naturais de pragas do citros
- (ii) Determinar o efeito residual de contato de agroquímicos recomendados para a produção integrada de citros aos inimigos naturais chaves da cultura de citros;
- (iii) Determinar o efeito de choque de agroquímicos recomendados para a produção integrada de citros para as diferentes fases dos inimigos naturais;
- (iv) Definir o efeito ovicida de agroquímicos recomendados para a produção integrada de citros aos inimigos naturais;
- (v) Determinar a persistência de agroquímicos recomendados para a produção integrada de citros aos inimigos naturais;
- (vi) Determinar a influência de agroquímicos na capacidade de parasitismo e predação dos principais parasitóides e predadores de pragas dos citros.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimento (i) em execução, com as criações das diferentes espécies de insetos a serem estudadas sendo estabelecidas; Os experimentos (ii; iii; iv; v; vi) não foram iniciados, aguardando resultados do experimento 1.

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Pedro T. Yamamoto - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Estudo do desenvolvimento da resistência de populações de D. citri aos agroquímicos

- Objetivos:** (i) Caracterizar a resistência de D. citri ao neonicotinóide imidacloprid;
- (ii) Avaliar a estabilidade da resistência de D. citri a imidacloprid em laboratório e em condições de campo;
- (iii) Avaliar a resistência cruzada de D. citri entre imidacloprid e inseticidas do grupo dos piretróides organofosforados e reguladores de crescimento de insetos;
- (iv) Avaliar o parasitismo de Tamarixia radiata (Hymenoptera: Eulophidae) sobre linhagens suscetíveis e resistentes de D. citri a imidacloprid.

Início: 2007

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimento (i) em execução, coleta e análise dos dados; (ii) não iniciado, área experimental sendo selecionada; (iii) em execução, coleta e análise dos dados; (iv) não iniciado, aguardando resultados do experimento 1.

Resultados: Entre as populações de D. citri avaliadas não foram verificadas diferenças para os inseticidas dimethoato e deltamethrin em relação a população suscetível. Entretanto, houve diferença para a população coletada em Mogi-Mirim ao inseticida imidacloprid

Pesquisador e Instituição Líder: Celso Omoto - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Mecanismo de transmissão de Candidatus Liberibacter asiaticus: atividades estiletares de D. citri associadas à aquisição e inoculação do patógeno em citros

Objetivos: (i) Estabelecer metodologia para otimização dos testes de transmissão de Candidatus Liberibacter spp. por Diaphorina citri;

(ii) Caracterizar a eficiência de transmissão de Ca. Liberibacter em relação a períodos de acesso à aquisição e inoculação;

(iii) Determinar o período latente e persistência do patógeno no vetor;

(iv) Identificar potenciais vetores do novo fitoplasma associado ao HLB no Estado de São Paulo.

(v) Determinar em que fase(s) da penetração estiletar de D. citri ocorrem a aquisição e a inoculação de Ca. L. asiaticus em citros, bem como as formas de onda de Electrical Penetration Graph (EPG) associadas a estes eventos.

(vi) Avaliar o tempo necessário de penetração estiletar de D. citri em citros para que ocorra a aquisição ou a inoculação de Ca. L. asiaticus.

Início: 2005

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Todos os experimentos estão sendo executados, em fase de coleta de dados e análise em laboratório.

Resultados: (i) Ninfas e adultos de D. citri podem adquirir eficientemente “Ca. L. asiaticus” (LAS) se tiverem um período de acesso à aquisição (PAA) de 1 e 4 dias, respectivamente, em ramos novos de plantas infectadas. Embora com menor eficiência, a aquisição do patógeno pode ocorrer em um período de apenas 1,5 h de exposição a uma planta infectada. (ii) A concentração de “Ca. L. asiaticus” atinge níveis mais elevados em D. citri quando a aquisição ocorre no quarto ou quinto ínstar da fase ninfal. (iii) A concentração bacteriana de “Ca. L. asiaticus” em D. citri aumenta no período de 7 a 21 dias após o início do período de acesso à aquisição na fase ninfal. (iv) Quando a aquisição ocorre na fase adulta, há uma tendência de estabilidade ou redução da concentração de “Ca. L. asiaticus” no inseto após 2 a 3 semanas do início do período de acesso à aquisição. (v) O período latente médio de Ca. L. asiaticus em D. citri é de, aproximadamente, 2 semanas (resultados parciais). (vi) A porcentagem de indivíduos infectivos aumenta com o passar do tempo após a aquisição do patógeno na planta-

fonte, atingindo um pico com 3-4 semanas, o que indica uma relação persistente de *Ca. L. asiaticus* com *D. citri*.

Pesquisador e Instituição Líder: João R. S. Lopes - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Estudo do comportamento do inseto com vistas à atração em campo, com o desenvolvimento de feromônios ou similares

- Objetivos:** (i) Extrair os voláteis de *D. citri* liberados pelos machos e fêmeas;
- (ii) Realizar bioensaios em olfatômetros, empregando-se os extratos obtidos de machos e fêmeas, objetivando evidenciar a mediação por feromônios sexuais na espécie;
- (iii) Isolar, identificar e, eventualmente, sintetizar o feromônio sexual de *D. citri*;
- (iv) Realizar bioensaios em olfatômetros e eletroantenografia (GC-EAD), empregando-se os compostos obtidos sinteticamente;
- (v) Estimar a dosagem, a quantidade e o tipo de armadilha ideal para o monitoramento e controle populacional de *D. citri*.

Início: 2008

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimentos (i) e (ii) em execução, experimento sendo avaliado; (iii) experimento em fase inicial de isolamento e identificação dos compostos envolvidos.

Resultados: (i) Obtenção dos voláteis de machos e fêmeas de *D. citri* sob diferentes condições laboratoriais, incluindo ajustes metodológicos para hemípteros, grupo de insetos ao qual pertencem os psílídeos; (ii) Verificação da atividade biológica (atratividade) dos extratos naturais de fêmeas de *D. citri* aos machos de mesma espécie em arena aberta em 78% dos casos.

Pesquisador e Instituição Líder: José M. S. Bento - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda

Desenvolvimento de um bioproduto à base de fungo entomopatogênico para controle de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Determinar a virulência (TL50 e CL50) de conídios aéreos de três isolados fúngicos para as fases de ovo, ninfa e adulto de *D. citri*;

(ii) Determinar o rendimento e a virulência de *Hirsutella thompsonii* patogênicos a *D. citri*, *Brevipalpus phoenicis* e *Phyllocoptruta oleivora* produzidos em fermentação bifásica com substratos sólidos e aditivos;

(iii) Desenvolver formulações pó molhável (PM) ou suspensão concentrada emulsionável (SC) de fungos que apresentem maior eficiência e longevidade em campo e proteção aos raios ultravioletas;

(iv) Determinar a persistência e das formulações fúngicas durante armazenamento;

(v) Testar a eficiência da formulação fúngica a adultos de *D. citri* em plantios de citros;

(vi) Avaliar a eficiência da aplicação de fungos entomopatogênicos em pomares de laranja comercial e confrontar esse sistema de manejo com sistema convencional químico;

(vii) Confirmar a identidade taxonômica dos fungos usados neste projeto por sequenciamento;

(viii) Testar a compatibilidade de fungicidas aos isolados de fungos entomopatogênicos selecionados, usando metodologia de aplicação destes de forma concomitante ou alternada em folhas de citros e usando os fungos formulados em óleo para determinar a proteção da formulação aos fungicidas.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Os experimentos (i; ii; iii; iv; v) estão sendo executados, em fase de coleta de dados; os experimentos (vi; vii e viii) não foram iniciados, aguardando resultados dos experimentos iniciais.

Resultados: (i) Seleção de linhagens promissoras dos fungos entomopatogênicos *B. bassiana* e *I. fumosorosea*; (ii) Compatibilidade do fungicida Kocide com *B. bassiana* e toxicidade moderada à *I. fumosorosea*.

Pesquisador e Instituição Líder: Italo Delalibera Jr. - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Controle biológico de *Diaphorina citri* com ação de *Tamarixia radiata*

Objetivos: (i) Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) para produção massal de seu parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae)

(ii) Criação em grande escala de *D. citri* para produção de *T. Radiata*

(iii) Fornecimento de psíldeos para os demais projetos;

(iv) Criação em grande escala do parasitóide *T. radiata* como agente de controle de *D. citri* e como parte de um programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP).

(v) Validação do modelo de exigências térmicas para o psíldeo e para o parasitoide

(vi) Avaliação da eficiência de *T. radiata*

Início: 2005

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimento (i) em execução, coleta de dados; Os experimentos (ii; iii; iv e v) não foram iniciados, aguardando finalização da construção de casa de vegetação.

Resultados: (i) *T. radiata* está presente em diversas regiões citrícolas do estado de São Paulo, com taxas de parasitismo e emergência variáveis entre 20 a 80%. As maiores taxas ocorrem nas temperaturas de 25 e 30°C. (ii) *T. radiata* se desenvolve na faixa térmica de 15 a 35°C, sendo 25°C a temperatura com maiores valores da taxa líquida de reprodução e de razão finita de aumento. (iii)- Ninfas de quarto e quinto ínstares de *D. citri* são as mais adequadas para o desenvolvimento de *T. radiata*, e a temperatura mais adequada para o parasitismo é a de 25°C, vindo a seguir a de 30°C. (iv) O tempo do desenvolvimento para o período ovo-adulto de *T. radiata* é inversamente relacionado com temperaturas na faixa de 18 a 32°C, o limite térmico inferior de desenvolvimento é de 7,13°C e a constante térmica é de 188,7GD. (v) O parasitismo e a porcentagem de emergência de *T. radiata* sobre *D. citri* são maiores a 70% de umidade relativa. (vi) Ao longo do ano, pode ocorrer na região norte de 10 a 13 ciclos de *D. citri* e de 31 a 35 ciclos de *T. radiata*; na região nordeste, o número de ciclos pode variar de 6 a 10 e de 24 a 31 para a praga e para o parasitóide, respectivamente. Para as regiões sudoeste e sudeste, o número de gerações pode variar de 3 a 10 e de 19 a 31 para *D. citri* e *T. radiata*, respectivamente.

Pesquisador e Instituição Líder: José R. P. Parra - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Dinâmica de brotações e de populações de D. citri em diferentes regiões e variedades cítricas

Objetivos: (i) Avaliar o efeito de regiões, épocas do ano e variedades cítricas sobre padrões de brotações e picos populacionais de D. citri.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Não iniciado. Área experimental sendo selecionada

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: João R. S. Lopes - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Pedro T. Yamamoto (ESALQ/USP) e Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Capacidade de dispersão de *Diaphorina citri* em pomares cítricos

Objetivos: (i) Investigar a possibilidade de eventos migratórios de *D. citri* e épocas de ocorrência.

(ii) Adaptar metodologia de marcação, liberação e recaptura para estudos de dispersão de *D. citri* no campo.

(iii) Avaliar fatores que possam influenciar na dispersão do inseto entre pomares cítricos jovens, condicionando a disseminação primária da doença a distâncias moderadas.

(iv) Avaliar a distância e velocidade de dispersão de *D. citri* dentro de pomares cítricos.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Os experimentos (i; iii; iv) não foram iniciados, área experimental sendo selecionada; (ii) em execução no laboratório e casa de vegetação.

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: João R. S. Lopes - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Avaliação da técnica de cultura armadilha em pomares de laranja para o manejo de D. citri

Objetivos:

- (i) Avaliar a ação de inseticidas sistêmicos recomendados para o controle de D. citri aplicados em plantas de murta;
- (ii) Avaliar a redução da população de psíldeos na bordadura de talhões manejados com plantio-isca.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: (i) Finalizado; (ii) em execução.

Resultados: (i) Os inseticidas sistêmicos (thiamethoxam e imidacloprid) foram aplicados via “drench” em plantas de murta (estufa) e a mortalidade de D. citri foi avaliada quinzenalmente. Após 120 dias da aplicação ambos os inseticidas apresentaram uma boa eficiência de controle (>80%). Estes resultados, demonstram a viabilidade de inseticidas sistêmicos em murta. (ii) Duas áreas foram implantadas (pomar adulto e recém-plantado) até o momento não existe diferença entre áreas com e sem plantio-isca, isso está ocorrendo provavelmente devido a baixa incidência de psíldeos coletados e porte das murtas (pequenas).

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: João R. S. Lopes (ESALQ/USP) e Rodrigo N. Marques (Pós Doc)

Zonas de alerta, intervenções populacionais e modelos tróficos aplicados ao manejo de D. citri

Objetivos: (i) Identificar zonas de alerta para a ocorrência de surtos populacionais de D. citri em pomares do Estado de São Paulo, com vistas à adoção de medidas de controle;

(ii) Propôr um modelo para investigar a dinâmica populacional de D. citri e seu parasitóide T. radiata, visando estratégias de controle com base na dinâmica interativa das espécies.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Coleta de dados

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Wesley A. C. Godoy - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Caracterização dos transcritos de *D. citri* via análises de transcriptoma: busca de alvos para aplicação da técnica de RNAi

Objetivos: (i) Manipular processos fisiológicos necessários à manutenção de atividades vitais ao inseto, para a sua aplicação no desenvolvimento da estratégia de controle via RNAi.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Aguardando reagentes

Resultados: Não tem. Vide observações sobre a situação do projeto.

Pesquisador e Instituição Líder: Fernando L. Cônsoli - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Variabilidade genética e estrutura populacional de *Diaphorina citri*, *Tamarixia radiata* e seus endossimbiontes

Objetivos: (i) Estabelecer linhagens aposimbiontes (S-) e linhagens associadas a simbiontes específicos (S+) através da eliminação seletiva dos simbiontes associados ao vetor do greening, *D. citri*;

(ii) Determinar a relação de simbiose (positiva, negativa ou neutra) existente entre esse inseto e seus diversos simbiontes, investigando aspectos da biologia de *D. citri* através da comparação de linhagens com simbiontes (S+) com linhagens aposimbiontes (S-);

(iii) Avaliar a possibilidade de uso e a seleção do simbionte adequado para o desenvolvimento de ferramentas que levem à sua aplicação como estratégia de controle do greening ou de seu vetor, assim como o desenvolvimento de outros estudos que visem avaliar o impacto dos simbiontes na relação do vetor como patógeno, do vetor com a planta hospedeira e do vetor com seu inimigo natural, o parasitóide *T. radiata*;

(iv) Estudar a variabilidade genética e estrutura populacional de *D. citri* e *T. radiata*.

Início: 2010

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Todos os experimentos estão em execução, em fase de coleta e análise de dados.

Resultados: *Diaphorina citri* apresenta-se associada aos simbiontes primários *Carsonella* e simbionte do sincício e ao simbionte secundário *Wolbachia*. Apesar de terem sido observadas alterações em aspectos biológicos em insetos provenientes de tratamentos com rifampicina, tetraciclina e estreptomicina, a quantificação dos simbiontes por q-PCR indicou apenas a redução de *Wolbachia* e *Carsonella* em alguns tratamentos, e um aumento substancial na densidade do simbionte do sincício em todos eles. Alguns tratamentos que obtiveram redução na densidade dos simbiontes não apresentaram alterações em sua biologia, indicando que os efeitos observados foram provavelmente decorrentes da interferência dos antibióticos estreptomicina, tetraciclina e rifampicina em processos metabólicos do inseto. O aumento na densidade do simbionte do sincício em insetos tratados com antibióticos pode indicar a compensação na redução de outro simbionte que seja importante ao desenvolvimento de *D. citri*, como *Carsonella*, ou mesmo a compensação de algum efeito adverso dos antibióticos no metabolismo do próprio inseto.

Pesquisador e Instituição Líder: Fernando L. Cônsoli - ESALQ/USP

Pesquisadores colaboradores: Marcelo P. Miranda (Fundecitrus)

Obtenção de laranjeiras transgênicas repelentes do inseto *Diaphorina citri*, vetor das bactérias *Ca. Liberibacter spp.* para o controle eficaz, duradouro e sustentável do HLB

Objetivos: (i) Obter laranjeiras transgênicas repelentes do inseto *Diaphorina citri*, vetor das bactérias *Ca. Liberibacter spp.* para o controle eficaz, duradouro e sustentável do Huanglongbing (HLB).

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2014

Observações sobre andamento: Em execução

Resultados: No IVIA foi estabelecido o procedimento de transformação genética de material adulto da variedade Valência e para Pera prosseguem trabalhando para o estabelecimento do protocolo usando diferentes fontes de material vegetal na transformação. No Fundecitrus o protocolo de transformação genética foi totalmente integrado permitindo regeneração de tecidos transformados até a obtenção de brotos transgênicos de material adulto da variedade valência e da variedade Pera. Os voláteis da goiaba, envolvidos na repelência da *D.citri*, os sesquiterpenos, foram identificados durante o primeiro ano do desenvolvimento do projeto e a clonagem dos genes responsáveis por estes compostos foi realizada. Foram geradas 16 construções gênicas as quais foram usadas para transformar plantas modelos de *Arabidopsis* a fim de poder conhecer a eficiência de cada construção. As quatro melhores construções foram usadas para transformar a laranja adulta. Os voláteis presentes nas plantas de goiaba foram identificados e experimentos indicaram que houve alterações comportamentais em *D. citri* promovidas tanto pelos voláteis de goiabeiras e como pelos voláteis de citros infectados por *Candidatus Liberibacter asiaticus*. P pedido de patente foi publicado pela “World International Property Organization” no dia 5 de maio de 2011 e se tornou pública. Foram geradas plantas transgênicas de Pera e Valencia para duas construções e para o cassete controle.

Pesquisador e Instituição Líder: Leandro Peña - IVIA

Pesquisadores colaboradores: Andreia Henrique, Viviani Marques, Nelson A. Wulff (Fundecitrus)

Avaliação de condições de coleta e armazenamento de adultos de *Diaphorina citri* na detecção de *Candidatus Liberibacter asiaticus*

Objetivos: (i) Comparar metodologias de coleta e armazenamento de psilídeos adultos na detecção de *Ca. Liberibacter asiaticus* para estudos de infectividade. Em um primeiro experimento será avaliada a influência do tempo de exposição do psilídeo capturado em armadilha adesiva amarela, em duas épocas do ano, na detecção da bactéria através da técnica de PCR. Em um segundo experimento será avaliado a influência do modo de conservação (com ou sem etanol), da temperatura de conservação e do tempo de armazenamento dos insetos coletados vivos, na detecção da bactéria pela técnica de PCR.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Todos os experimentos foram realizados, faltando somente a análise estatística e redação da dissertação

Resultados: A forma de armazenamento de psilídeos teve pouco efeito na detecção de liberibacter; O tempo de exposição do psilídeo na armadilha amarela não teve efeito na detecção de liberibacter no psilídeo.

Pesquisador e Instituição Líder: Diva C. Teixeira - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Renato B. Bassanezi (Fundecitrus) e Ivaldo Sala (Mestrado Fundecitrus)

Utilização do óleo mineral no manejo de Diaphorina citri e outras pragas dos citros

Objetivos: (i) Avaliar em condições de campo a efetividade do óleo mineral em repelir D. citri; (ii) Avaliar a efetividade no controle de pragas dos citros (pulgão, cigarrinhas e ácaros).

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2015

Observações sobre andamento: (i) Experimento em execução, população de D. citri e outras pragas sendo avaliada;

Resultados: (i) Sem resultados conclusivos até o momento devido ao baixo número de avaliações e população das pragas e D. citri.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda – Fundecitrus

Avaliação de inseticidas sobre o controle de *Diaphorina citri* e outras pragas dos citros

Objetivos: (i) Avaliação da efetividade de inseticidas (produtos comerciais) para controle de *D. citri*; (ii) Avaliação de diferentes volumes de calda no controle de *D. citri*; (iii) Avaliação da efetividade de novas moléculas para o controle de *D. citri*. (iv) Avaliação de fatores que influencia na efetividade da pulverização

Início: 2009

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Em execução, coleta e análise de dados (campo e estufa)

Resultados: (i) Foram avaliados 25 ingredientes ativos (com registro em citros) em diferentes formulações e doses (2 neonicotinoides; 5 organofosforados; 10 piretróides; 3 carbamatos; 3 reguladores de crescimento; 2 outros grupos) em condições de estufa e campo. Em geral os inseticidas de contato apresentam um bom efeito de choque (principalmente piretróides e organofosforados) e existe uma relação direta (positiva) entre dose e período residual. (ii) Nas áreas avaliadas com os volumes de calda de 23 (pomar 4 anos) e 34ml/m³ (pomar 8 anos), conseguiu-se uma boa eficiência de controle ($\geq 90\%$) para *D. citri*. Isso representa uma redução de 70 (pomar 4 anos) e 40% (pomar 8 anos) no volume de calda que vinha sendo utilizado nestas áreas. (iii) Seis novas moléculas foram avaliadas [Cyantraniliprole; Imidacloprid+Spirotetramate, Chlorantraniliprole, Spinetoram, HMM-0926; Pe (Confidencial)]; Os três primeiros ativos apresentam efeito de contato e sistêmico, os demais apenas efeito de contato. Também foram avaliados dois inseticidas comerciais (pimetrozina; Zeta-cipermetrina) que não possuem registro para citros. (iv) A mistura de inseticidas (imidacloprid, dimetoato e lambda-cialotrina) mais cobre (oxiclureto e hidróxido de cobre) não afeta o efeito de choque dos inseticidas no controle de *D. citri*. Resultados preliminares indicaram que chuvas de 20mm e brotações afetam negativamente o efeito dos inseticidas de contato.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Pedro T. Yamamoto (ESALQ/USP)

Avaliação de métodos de monitoramento de Diaphorina citri (Hemiptera: Psyllidae)

Objetivos: (i) Avaliar diferentes métodos para o monitoramento de D. citri

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento finalizado, confecção de artigo científico;

Resultados: (i) Em áreas com controle de D. citri, o método mais efetivo de monitoramento foram as armadilhas adesivas amarelas; Armadilhas verdes e amarelas apresentam a mesma efetividade; Treinamento do inspetor é fundamental para a identificação do inseto nas armadilhas.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Avaliação de substâncias atrativa e repelente (DMDS) em pomares cítricos com e sem controle químico de *Diaphorina citri*

Objetivos: (i) Avaliar a efetividade do DMDS em repelir *D. citri*; (ii) Avaliar a efetividade de atrativos associados a armadilha amarela sobre *D. citri*.

Início: 2011

Previsão de conclusão: 2012

Observações sobre andamento: Experimento finalizado.

Resultados: (i) O ACP repel (DMDS) na formulação Splat não apresenta efeito repelente sobre *D. citri*, este produto causou fitotoxicidade nos ramos onde foi aplicado.

(ii) A substância avaliada não aumentou a atratividade das armadilhas adesivas amarelas.

Pesquisador e Instituição Líder: Marcelo P. Miranda - Fundecitrus

Incidência de psilídeos *D. citri* em áreas cultivadas com citros associados à goiabeiras

Objetivos: (i) Avaliar a incidência de *D. citri* em áreas de citrus intercalado com goiabeiras por meio de monitoramento com armadilhas adesivas amarelas.

Início: 2012

Previsão de conclusão: 2013

Observações sobre andamento: Experimento em andamento, com monitoramento quinzenal.

Resultados: (i) Até o presente momento um número não significativo de psilídeos foi capturado na área. Havendo portanto a necessidade de monitorar a área por um tempo mais longo (até o final de 2013) para que se possa elaborar uma conclusão do estudo.

Pesquisador e Instituição Líder: Newton C. Noronha Jr. - Fundecitrus

Pesquisadores colaboradores: Leandro Peña (IVIA - Espanha), Fábio L. Santos (Fundecitrus)