



**Universidade Federal de São Carlos**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**Curso de Engenharia Agrônoma**



**JÉSSICA APARECIDA LARA LAVORENTI**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS EM MUDAS DE  
CITROS INFECTADAS COM HLB E SUBMETIDAS A DIFERENTES  
DISPONIBILIDADES HÍDRICAS**

**ARARAS - 2021**



**Universidade Federal de São Carlos**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**Curso de Engenharia Agrônoma**



**JÉSSICA APARECIDA LARA LAVORENTI**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E NUTRICIONAIS EM MUDAS DE  
CITROS INFECTADAS COM HLB E SUBMETIDAS A DIFERENTES  
DISPONIBILIDADES HÍDRICAS**

Monografia apresentada ao Curso de  
Engenharia Agrônoma – CCA – UFSCar para  
a obtenção do título de Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Marcio Roberto Soares

Coorientador: Prof. Dr. Dirceu de Mattos Júnior

**ARARAS – 2021**

**Dedico este presente estudo, bem como todas minhas conquistas e realizações aos meus amados pais, irmãos e namorado.**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus pela minha vida, por ter me abençoado com uma família muito amada e querida, e por ter me fortalecido, iluminado e guiado durante toda jornada de minha vida.

Agradeço aos meus pais, Elisangela Toledo Lara Lavorenti e Evandro Luis Lavorenti, por serem meus heróis e exemplo, pelo amor, carinho e apoio incondicional.

Agradeço aos meus irmãos Júlio Aparecido Lara Lavorenti e Juliana Lara Lavorenti, pela amizade, apoio, incentivo e atenção dedicadas quando sempre precisei.

Agradeço ao meu namorado, Leonardo Marciano Rey Princigalli, que acima de tudo é meu melhor amigo e parceiro, por ter me dado confiança e força para superar todos os obstáculos, e me tranquilizar nos momentos de grandes angústias e frustrações.

Agradeço aos velhos e novos amigos que a universidade me proporcionou, em especial, Jenifer Corrêa, Mariana Petini, Laíze Borelli, Bruna Panza, Ana Victória Jerônimo, Jaiana Gomes, Bruna Castriani, Máisa Von Gal, Ariele Faria e Thamiris Pereira, pelas trocas de ideias, convívio, cooperação mútua e por compartilharem momentos incríveis comigo.

Agradeço à República Viracopos pelo acolhimento, por se tornarem minha família, pela amizade e por todo carinho. Fiz laços que levarei sempre comigo.

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos, seus funcionários e corpo docente que demonstraram todo o comprometimento com a qualidade e excelência de ensino.

Agradeço ao meu orientador da universidade, Prof. Dr. Marcio Roberto Soares, que mesmo tendo uma intensa rotina aceitou me orientar nesta monografia.

Agradeço por todo o incentivo, dedicação e paciência durante esses anos de graduação.

Agradeço ao Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (IAC – Cordeirópolis), em especial ao meu orientador do estágio, Prof. Dr. Dirceu Mattos Jr., o Prof. Dr. Rodrigo Boaretto e Prof. Dr. Jefferson Rangel, pelo auxílio no desenvolvimento deste projeto, pela confiança depositada em mim, por sempre estarem presentes para indicar a direção correta que o trabalho deveria tomar. As suas valiosas indicações fizeram toda a diferença.

Agradeço ao Prof. Dr. Valter Casarin, Prof. Dr. Luís Ignácio Prochnow e Prof. Dr. Eros Francisco, por sempre estarem incentivando, pelas orientações nas tomadas de decisões, e pelos ensinamentos e apoio, posso garantir que foram essenciais para o meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Para finalizar, gostaria de agradecer a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento desse projeto.

**“Aquilo que escuto, eu esqueço,  
Aquilo que vejo, eu lembro,  
Aquilo que faço, eu aprendo.”**

**Confúcio**

## RESUMO

A citricultura contribui com o maior volume da produção brasileira de frutas, obtido com alta produtividade dos pomares, resultado da adoção de tecnologias como adensamento de plantio, adubação e irrigação. Porém, o aumento na incidência de problemas fitossanitários, principalmente do huanglongbing (HLB), pressiona custos de produção e acarreta diminuição da sustentabilidade do setor. O agente causal do HLB é uma bactéria restrita ao floema (*Candidatus Liberibacter*) que causa prejuízos à absorção de água e nutrientes. Apesar da existência de recomendações que visam reduzir a susceptibilidade de plantas ao HLB com melhor manejo da irrigação e da adubação, pouco se sabe sobre a relação entre disponibilidade hídrica e as respostas fisiológicas e nutricionais em plantas de citros infectadas com HLB. O presente estudo tem por objetivo compreender as alterações fisiológicas, nutricionais e bioquímicas observadas em estágios iniciais da infecção por HLB em plantas de laranja 'Valência' (*C. sinensis*) enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' [*Citrus paradisi* X *Poncirus trifoliata* (L.)], submetidas a diferentes condições de suprimento de água. O experimento foi desenvolvido em vasos em casa-de-vegetação e o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema de parcelas subdivididas, com duas condições de infecção (HLB+ e HLB-) e duas condições de suprimento de água (irrigação plena (FI) e déficit de irrigação (DI)). Aos 75 dias após o transplantio, foram avaliados os seguintes parâmetros: taxa fotossintética líquida, transpiração, condutância estomática, eficiência intrínseca no uso da água, área e massa foliar, título bacteriano em folhas e raízes, teores de amido e de açúcares solúveis, teores de nutrientes e massa seca de folhas, ramos e raízes. Os resultados foram analisados pelo teste t de Student a 5% de probabilidade. As plantas infectadas com HLB e submetidas ao déficit de irrigação apresentaram menor acúmulo de amido, maior conteúdo de açúcares solúveis em folhas, maior eficiência no uso da água e maiores teores de nutrientes na parte aérea. Essas respostas em plantas sob déficit hídrico foram associadas à diminuição na população bacteriana em partes da planta previamente infectadas, bem como na desaceleração do progresso da doença para partes novas da copa que se desenvolveram após a infecção. A diminuição na população bacteriana sob condição mais restrita de suprimento de água é importante informação para futuras práticas de manejo com espécies que venham a ser tolerantes ao HLB, haja vista a série de respostas fisiológicas, bioquímicas e nutricionais sob déficit de irrigação.

**Palavras-chave:** laranja; *Candidatus liberibacter*; disponibilidade de água; capacidade fotossintética; acúmulo de amido.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Visão geral do experimento e detalhe do desenvolvimento inicial de dois fluxos vegetativos, localizado na casa de vegetação do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (Instituto Agronômico de Campinas) no município de Cordeirópolis, São Paulo, 2019. 21

**Figura 2.** Organização do experimento conduzido na casa de vegetação do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (Instituto Agronômico de Campinas) no município de Cordeirópolis, São Paulo, 2019. 22

**Figura 3.** Valores de taxa fotossintética líquida ( $A_{net}$ ) (A), relação  $A/C_i$  (B) condutância estomática ( $g_s$ ) (C) e transpiração (E) (D) em plantas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB–) e infectadas (HLB+), completamente irrigadas (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão. 33

**Figura 4.** Eficiência no uso da água (WUE) (A) e eficiência intrínseca no uso da água ( $iWUE$ ) (B) em plantas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB–) e infectadas (HLB+), completamente irrigadas (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão. 34

**Figura 5.** Título bacteriano ( $C_T$ ) em folhas do primeiro (A) e do segundo fluxo (B) vegetativo e de raízes (C) de plantas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre



'Citrumelo Swingle' infectadas com (HLB+), completamente irrigadas (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão. ns indica que não houve diferença significativa. 35

**Figura 6.** Teor de amido em folhas de plantas de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), completamente irrigadas (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão. 37

**Figura 7.** Teor glicose (A), frutose (B), sacarose (C) e maltose (D) em folhas de plantas de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), completamente irrigadas (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão. 38

**Figura 8.** Quantidade de água aplicada ao longo do período experimental em plantas de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), completamente irrigadas (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). 39

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Fontes e doses de macro e micronutrientes utilizadas na adubação de manutenção de mudas de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle'.

26

**Tabela 2.** Parâmetros biométricos de mudas de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

27

**Tabela 3.** Teores de nutrientes foliares de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

30

**Tabela 4.** Teores de nutrientes de raízes de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

32

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Objetivo Geral.....	14
2.2. Objetivos Específicos.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1. Importância econômica da citricultura.....	15
3.2. Huanglongbing (HLB) – o “greening”.....	17
3.2.1. Histórico.....	17
3.2.2. Caracterização da doença e danos às plantas cítricas.....	18
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
4.1. Fase de primeiro fluxo vegetativo.....	22
4.2. Fase de segundo fluxo vegetativo.....	23
4.3. Adubação de manutenção.....	25
4.4. Delineamento experimental e análise estatística.....	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
5.1. Produção de biomassa e área foliar.....	27
5.2. Teores de nutrientes em folhas e raízes.....	28
5.3. Trocas gasosas.....	32
5.4. Título bacteriano (C <sub>T</sub> ).....	35
5.5. Teores de amido, glicose, frutose, sacarose e maltose.....	36
5.6. Quantidade de água aplicada ao longo do experimento.....	39
6. CONCLUSÃO.....	40
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de laranja do mundo (SILVA, 2017). O setor agroindustrial citrícola brasileiro apresenta números expressivos, não observados em nenhum outro produto de exportação do agronegócio no país (SANTOS, 2013).

A produção de citros no Brasil se dá principalmente no Estado de São Paulo, com 14,5 milhões de t de laranjas, numa área plantada de aproximadamente 420 mil ha. Outros Estados como Minas Gerais, Bahia, Paraná, Rio Grande do Sul e Sergipe também contribuem para a produção. Minas Gerais, numa área plantada de 37 mil ha, contribui com 936 mil t de laranja. O Paraná, com uma área plantada de 22 mil ha, proporciona uma produção de aproximadamente 804 mil t. O Estado da Bahia conta com uma produção de 633 mil t em 61,5 mil ha. O Rio Grande do Sul e Sergipe contribuem com 357 e 364 mil t em 23 e 32 mil ha de área plantada, respectivamente (CONAB, 2020).

As plantas cítricas estão sujeitas a vários problemas de ordem fitossanitária, que são fatores limitantes que impactam negativamente a produção e representam efetiva ameaça econômica ao setor (MÜLLER et al., 2005). Atualmente, o Huanglongbing (HLB), também conhecido como greening, é a doença mais importante e destrutiva da citricultura mundial.

No Brasil, a doença tem sido relatada desde 2004 (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005) e restringe-se, até o momento, aos Estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais. Segundo um levantamento realizado pela Fundecitrus (2020), a incidência média do HLB de laranjeiras com sintomas de greening no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/Sudoeste de Minas Gerais é de 20,87%, o que corresponde a aproximadamente 41,3 milhões de árvores.

Ainda hoje não existem métodos para curar as plantas doentes no campo em larga escala e todas as variedades comerciais de laranja estão suscetíveis à doença (GOTTWALD et al., 2007).

Embora as disfunções do HLB tenham sido associadas ao acúmulo de amido nos cloroplastos e nos elementos de tubos crivados (ETXEBERRIA et al., 2009; FAN et al., 2010; FOLIMONOVA e ACHOR, 2010; KOH et al., 2012; ARITUA et al., 2013; CIMÒ et al., 2013; JOHNSON et al., 2014), o complexo processo associado à síntese/degradação do amido não foi totalmente elucidado em plantas infectadas com

HLB (GIBON et al., 2009; ETXEBERRIA et al., 2009; FAN et al., 2010). Foi sugerido que a obstrução dos tubos crivados por grânulos de amido inibe o transporte de fotoassimilados para os órgãos dreno (ETXEBERRIA e NARCISO, 2012), restringindo o crescimento radicular e, portanto, a captação de água e nutrientes (ETXEBERRIA et al., 2009; GRAHAM et al., 2013; KADYAMPAKANI et al., 2014; JOHNSON et al., 2014; HAMIDO et al., 2016). Também foi relatado que qualquer grau de estresse hídrico pode exacerbar os efeitos deletérios do HLB (KADYAMPAKANI et al., 2014; KADYAMPAKANI e MORGAN, 2017). Todavia, não existem estudos com foco no entendimento das respostas fisiológicas de plantas infectadas com HLB e submetidas a diferentes disponibilidades hídricas (SPANN e SCHUMANN, 2009).

Neste estudo, foram considerados os efeitos interativos do déficit de irrigação e da infecção por HLB em características fisiológicas e nutricionais importantes de crescimento em plantas cítricas. Ressaltamos que a avaliação das respostas das plantas infectadas com HLB sob déficit de irrigação pode contribuir para a compreensão das principais características fisiológicas modificadas pela doença, a fim de orientar trabalhos futuros com o objetivo de encontrar algum grau de tolerância.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Considerando a hipótese de que as plantas infectadas e submetidas ao DI apresentam maiores distúrbios fisiológicos e nutricionais, o presente estudo tem por objetivo compreender as alterações fisiológicas, nutricionais e bioquímicas observadas em estágios iniciais da infecção por HLB em plantas de laranjeira 'Valência' (*C. sinensis*) enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' [*Citrus paradisi* X *Poncirus trifoliata* (L.)], submetidas a diferentes condições de suprimento de água.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Entender a relação entre o processo de multiplicação bacteriana e o progresso da doença sob diferentes condições de suprimento de água;
- Identificar as alterações fisiológicas e nutricionais primárias provocadas pelo comprometimento da sanidade das plantas;
- Avaliar como o déficit hídrico pode alterar respostas fisiológicas e nutricionais de plantas infectadas com HLB.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Importância econômica da citricultura

Os citros compreendem um amplo grupo de plantas do gênero *Citrus* e outros gêneros afins (*Fortunella* e *Poncirus*) ou híbridos da família Rutaceae. Este grupo abrange as laranjas (*Citrus sinensis*), tangerinas (*Citrus reticulata* e *Citrus deliciosa*), limões (*Citrus limon*), limas ácidas, como o Tahiti (*Citrus latifolia*) e o Galego (*Citrus aurantiifolia*), e doces, como a lima da Pérsia (*Citrus limettioides*), pomelo (*Citrus paradisi*), cidra (*Citrus medica*), laranja-azeda (*Citrus aurantium*) e toranjas (*Citrus grandis*) (MATTOS JUNIOR et al., 2005).

As plantas cítricas são oriundas da Ásia e foram introduzidas no Brasil pelas primeiras expedições colonizadoras, provavelmente na Bahia. Com melhores condições para vegetar e produzir do que nas próprias regiões de origem, as citrinas se expandiram para todo o país (LOPES et al., 2011).

A copa e o porta-enxerto exercem influências recíprocas entre si, fato que pode determinar a rentabilidade do cultivo (CASTLE et al., 1993). Entre as diversas características afetadas pela relação copa/porta-enxerto, citam-se os efeitos sobre o tamanho da árvore, produtividade e qualidade de frutos, e tolerância a fatores bióticos e abióticos (STUCHI et al., 2008).

Capazes de influenciar várias características hortícolas e fitopatológicas nas árvores e nos frutos cítricos, os porta-enxertos podem refletir a aptidão do pomar em relação ao destino da produção, em função da qualidade da mesma. Tanto a qualidade dos frutos quanto a produtividade do pomar são enormemente influenciadas pelas condições de clima, pelos fatores relacionados à adubação e ao solo, pelo espaçamento, pelo manejo e por vários outros fatores. Entretanto, sob as mesmas condições, alguns porta-enxertos se destacam pela excelência em determinados aspectos (SCHÄFER et al., 2001).

O porta-enxerto induz alterações à variedade copa no seu crescimento, tamanho, precocidade de produção, produtividade, época de maturação e peso dos frutos, coloração da casca dos frutos, teor de açúcares e de ácidos, permanência dos frutos na planta, conservação após a colheita, transpiração das folhas, fertilidade do pólen, composição química das folhas, capacidade de absorção, síntese e utilização de nutrientes, tolerância a salinidade, resistência à seca e ao frio, resistência e

tolerância a moléstias e pragas e resposta a produtos de abscisão (POMPEU JÚNIOR, 1991).

O Citrumelo Swingle' (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*) consiste num híbrido testado como porta-enxerto, desde os anos de 1940 em variedades comerciais em alguns países. Foi introduzido no Brasil por ser resistente à tristeza, à gomose, a nematóide e ao frio. É produtivo, porém as plantas com esse porta-enxerto são exigentes em adubação, principalmente o potássio, para alcançar tamanho de frutos similar ao produzido com uso do porta-enxerto limoeiro 'Cravo' (BASTOS et al., 2014).

A laranja é a principal fruta cítrica cultivada no mundo, tendo sido produzidas 54,3 milhões de t na safra 2018/19, além de 30,0 milhões de t de tangerina e 8,4 milhões de t de limão e lima (USDA, 2019). Na safra 2018/19, o Brasil foi responsável por 37% da produção mundial de laranja (VIDAL, 2019). Com relação aos demais citros para os quais se tem informações, a participação brasileira na produção é pequena. A China responde por quase 69% da produção mundial de tangerina, enquanto México, Argentina, União Europeia e a Turquia são os maiores produtores mundiais de limão e lima (USDA, 2019).

A citricultura brasileira, que detém a liderança mundial na produção de laranjas, tem se destacado pela promoção do crescimento sócio-econômico, contribuindo com a balança comercial nacional e, principalmente, como geradora direta e indireta de empregos na área rural (LOPES et al., 2011).

O Brasil, na década de 80, tornou-se o maior produtor mundial de laranjas e exportador do suco concentrado e congelado. O setor citrícola brasileiro é um dos mais representativos do mundo, logo seguido pelos Estados Unidos cujo setor se ocupa, majoritariamente, em produzir laranjas para o fornecimento de matérias-primas para as indústrias de sucos, enquanto a Europa se destaca na produção de frutos de alta qualidade para o mercado de frutas frescas (FAO, 2015).

O Estado de São Paulo é considerado o principal produtor brasileiro de plantas cítricas desde 1957, quando houve o declínio do café (HASSE, 1987; BORGES e COSTA, 2005; LIMA, 2012).

De acordo com levantamento realizado pelo Fundecitrus (2015), o parque citrícola brasileiro, compreendido pelo Estado de São Paulo e Triângulo Mineiro, possui 492.544 ha. Deste total, 12.980 ha produzem frutos para o consumo *in natura* e 430.618 ha são destinados ao mercado de processamento de suco. Os pomares



abandonados representam 2,02%, e o restante da área é destinada a limões, limas ácidas e tangerinas.

Nos nove primeiros meses da Safra 2019/20 (julho de 2019 a março de 2020), o Brasil exportou 18% a mais em volume, quando comparado com o mesmo período da safra anterior. Em relação à oferta, a Safra 2019/20, de bienalidade positiva, apresentou um aumento de 35% no volume colhido no cinturão citrícola de São Paulo e regiões do Triângulo/Sudoeste mineiro, responsável por mais de 80% da produção. Para a safra 2020/21, é esperado uma queda de 26% nesse volume, uma vez que, além de ser um ano de bienalidade negativa, houve períodos de clima desfavorável nesta região produtora (CONAB, 2020).

## **3.2. Huanglongbing (HLB) - o “greening”**

### **3.2.1. Histórico**

Dentre os problemas fitossanitários que ocorrem em citros, o huanglongbing (HLB), popularmente também conhecido como greening, é considerado o mais destrutivo, consistindo, atualmente, na principal ameaça à citricultura brasileira e mundial, principalmente pela redução acentuada da produtividade e pela rapidez com que se dissemina (SULZBACH et al., 2017).

De 2004 em diante, a incidência do HLB gerou proporções de danos ainda maiores, uma vez que a doença passou a ser encontrada nos principais estados produtores de citros destinados ao processamento de suco, São Paulo (Brasil) (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005) e Flórida (EUA), em 2005 (HALBERT, 2005). O Brasil foi o primeiro país do continente americano a relatar a incidência da doença (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005; BOVÉ, 2006) e do vetor (LIMA, 1942). No entanto, é válido mencionar que a doença é muito mais antiga, sendo relatada na China em 1919 (REIKING, 1919), onde foi denominada de huanglongbing, e em 1937 na África do Sul (VAN DE MERWE e ANDERSON, 1937), onde foi chamada de greening. Na atualidade, a doença encontra-se disseminada por 4 continentes, sendo somente a Europa considerada área livre (YAMAMOTO et al., 2014).

No Brasil, a doença ocorre em São Paulo, Minas Gerais e Paraná, justamente os estados detentores de grandes parques citrícolas nacionais. O HLB constitui

também uma séria ameaça para outros estados ainda livres da doença, como o Rio Grande do Sul, além do Norte e Nordeste brasileiro (SULZBACH et al., 2017).

### 3.2.2. Caracterização da doença e danos às plantas cítricas

O HLB tem como agente causal as bactérias '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' '*Ca. L. americanus*' e '*Ca. L. africanus*', que são limitadas ao floema das plantas e transmitidas pelo psílido *Diaphorina citri* e pelo hemíptero picador-sugador *Trioza erythrae* (Bové, 2006). No Brasil, ocorrem as espécies '*Ca. L. americanus*' e '*Ca. L. asiaticus*' e ambas são transmitidas por *D. citri*.

Os insetos-vetores adultos de *D. citri* medem aproximadamente de 2,8 mm a 3,2 mm de comprimento e seu corpo apresenta coloração marrom claro, escurecendo à medida que envelhecem. São insetos muito ativos e que se movimentam saltando rapidamente quando perturbados (GALLO et al., 2002).

A contaminação de *D. citri* com bactérias associadas ao HLB ocorre durante a alimentação em plantas infectadas. O tempo necessário para que o inseto-vetor contraia as bactérias pode variar de 15 a 30 minutos até 5 a 7 horas (XU et al., 1988).

As bactérias agentes causais do HLB são da Ordem Rhizobiales, cujas bactérias são capazes de habitar o interior dos vasos de floema, caracterizando, portanto, seres intracelulares, e que causam expressivos distúrbios no metabolismo de seus hospedeiros levando ao quadro de sintomatologia conhecido como HLB (MACHADO et al., 2010).

O sintoma característico do HLB consiste em manchas cloróticas difusas nas folhas, formando um mosqueado assimétrico em relação à nervura central (BASSANEZI et al., 2009). Verificam-se, também, clorose das folhas novas, espessamento das nervuras das folhas e do albedo, frutos assimétricos e pouco desenvolvidos em função do desvio da columela central, abortamento de sementes e amadurecimento desuniforme dos frutos (BOVÉ, 2006). Também ocorre perda de qualidade dos frutos, com redução do teor de sólidos solúveis totais e aumento da acidez, depreciando-os, até mesmo, para a industrialização (BASSANEZI et al., 2006). Segundo Gottwald et al. (2007), o HLB também provoca expressiva queda de frutos, havendo reflexos danosos na produtividade. A redução da produção pode chegar a 100%, dependendo da proporção da copa afetada, ocorrendo a morte da planta em poucos anos após a infecção (BASSANEZI et al., 2006).

Alguns dos distúrbios fisiológicos acarretados pela doença incluem os efeitos negativos sobre os principais componentes do balanço de carbono da planta, que associados à capacidade reduzida das plantas infectadas em transportar carboidratos de fontes de carbono para os tecidos, claramente prejudica o crescimento da planta e, portanto, a biomassa (MATTOS JUNIOR et al., 2020).

Folhas de plantas afetadas pelo HLB apresentam maior peso por área unitária devido ao acúmulo de amido nas folhas (SPANN e SCHUMANN, 2009) podendo haver deposições calosas, obstrução do floema, necrose e colapso (BOVÉ et al., 2006; KIM et al., 2009; FOLIMONOVA et al., 2010). Concomitantemente, há o esgotamento do amido nas raízes fibrosas. As raízes fibrosas são formadas por muitas raízes pequenas, todas com aproximadamente o mesmo tamanho, que crescem em muitas direções a partir da base do caule (ETXEBERRIA et al., 2009). O comprometimento do sistema radicular, especialmente das raízes fibrosas em plantas afetadas pela doença, restringe a capacidade de absorção, assimilação, transporte e utilização de água e nutrientes (JAGOUÉIX et al., 1994; ETXEBERRIA et al., 2009; MEDINA et al., 2014; SACCINI et al., 2014; JOHNSON et al., 2014).

A debilitação das raízes fibrosas em plantas infectadas pelo HLB é a causa primária do déficit hídrico da planta (HAMIDO et al., 2017), provavelmente associada a paredes celulares mais espessas do xilema, o que reduz o lúmen dos vasos e restringe a captação de água e nutrientes (SPANN e SCHUMANN, 2009; KUMAR et al., 2018).

O requerimento hídrico necessário para uma boa produção de frutos em citros é de aproximadamente 900 a 1.200 mm por ano e varia com a demanda evapotranspirométrica, solo, copa e, principalmente, com o porta-enxerto utilizado (DONATO et al., 2007). Algumas espécies de plantas cítricas são consideradas tolerantes à condição de seca. Segundo Wutscher (1990), plantas enxertadas em citrumelo 'Swingle' são moderadamente resistentes à seca e à geada e são produtivas em solos arenosos ou argilosos. No entanto, não apresentam bom desempenho agrônomico em solos com pH elevado ou mal drenados. Segundo Boyer (1995), o estresse hídrico favorece o desenvolvimento de patógenos nas plantas por dois mecanismos principais. O primeiro ocorre pela redução da produção fotossintética (comprometimento das trocas gasosas), induzida pela deficiência hídrica, levando à diminuição da capacidade da planta em defender-se contra o patógeno. O segundo ocorre porque o crescimento da planta é diminuído sem redução da habilidade do

patógeno se desenvolver e reproduzir, agravando a doença. As relações hídricas de plantas doentes podem ser afetadas devido aos distúrbios no funcionamento de estômatos, ao aumento da resistência ao fluxo e/ou à absorção de água pelas raízes (MACHADO et al., 1994; MACHADO et al., 2002).

Como consequência das restrições na absorção de água, há diminuição geral nas concentrações de nutrientes na planta devido ao HLB, particularmente de Fe, Zn, Cu, Ca e Mg (SPANN e SCHUMANN, 2009; NWUGO et al., 2013). Diminuições nas concentrações de nutrientes podem reduzir a produção de proteínas associadas à defesa contra o estresse oxidativo, produção/regulação de energia e síntese/transporte de proteínas, especialmente devido à deficiência de Fe (NWUGO et al., 2013). Além disso, a redução no teor de nutrientes pode, em última análise, causar a canibalização de proteínas-chave, como RuBisCO, a fim de liberar nutrientes, o que danificaria ainda mais processos fisiológicos importantes, como a fotossíntese (HUBER e HANEKLAUS, 2007).

Diversos trabalhos têm sido publicados sobre respostas fisiológicas de plantas cítricas quanto às restrições hídricas no solo e sabe-se que o estresse hídrico pode melhorar a partição de carboidratos na direção das estruturas reprodutivas e controlar o excessivo crescimento vegetativo (MEDINA & MACHADO, 1998; MEDINA et al., 1999). Porém, são escassas as informações sobre o comportamento da água em plantas infectadas com a bactéria causadora do HLB que habita o floema (SPANN e SCHUMANN, 2009; KUMAR et al., 2018), bem como ainda não existem estudos fisiológicos com foco nos efeitos da doença sob disponibilidade reduzida de água.

Até o presente momento, também não existem medidas de controle efetivas e de baixo custo, nem mesmo métodos curativos para o HLB. Desta forma, prevenir a infecção das plantas é fundamental no controle da doença. As medidas preventivas de controle envolvem o plantio de mudas saudáveis, a eliminação de plantas doentes e o controle do inseto vetor. Sendo assim, o controle do HLB baseia-se na redução do inóculo, presente em plantas e insetos vetores. Medidas adicionais também devem ser empregadas, quando possível, como a eliminação das plantas de murta (*M. paniculata*), cujas plantas são hospedeiras para o inseto vetor. Essas práticas de manejo requerem tempo, recursos humanos e financeiros, e também a coordenação dos vários agentes envolvidos na produção de cítricos (produtores, governo e indústrias processadoras) (BELASQUE JUNIOR et al., 2009).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido em casa de vegetação do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (Instituto Agronômico de Campinas) no município de Cordeirópolis, São Paulo. Foram utilizadas mudas do tipo haste única de laranja ‘Valência’ (*C. sinensis*) enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ [*Citrus paradisi* X *Poncirus trifoliata* (L.)] com 12 meses de idade, que foram plantadas em vasos de 12 L contendo substrato à base de casca de *Pinus*. Os vasos foram envoltos com uma camada de papel alumínio para evitar o superaquecimento das raízes (Figura 1).



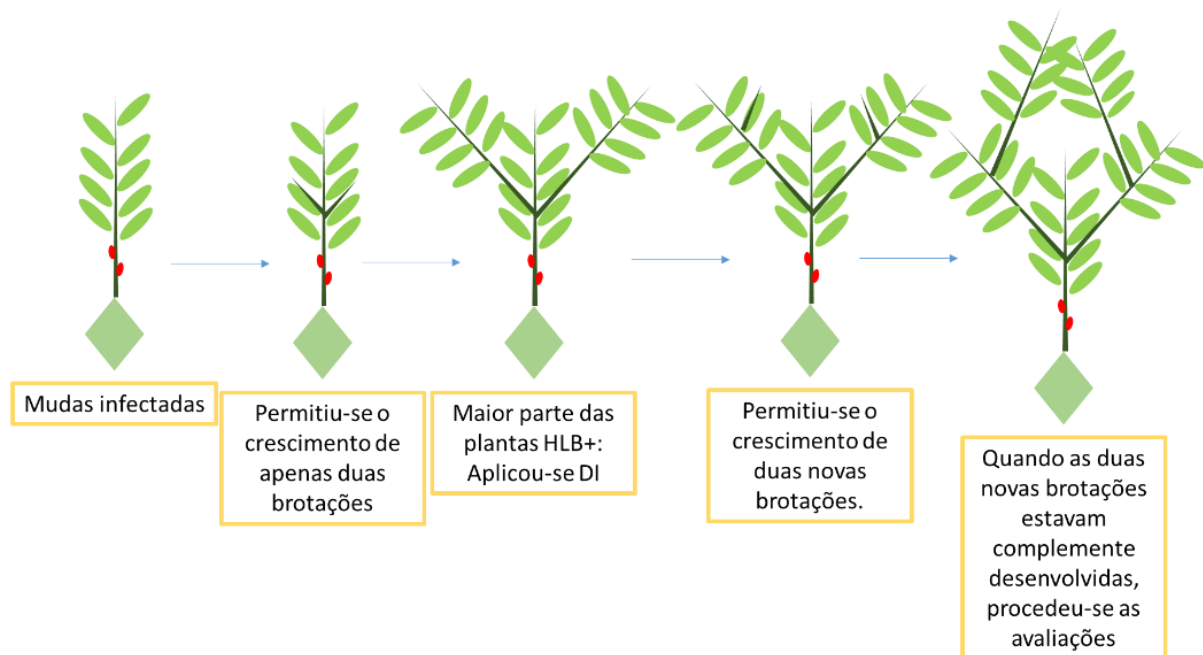
**Figura 1.** Visão geral do experimento e detalhe do desenvolvimento inicial de dois fluxos vegetativos, localizado em casa de vegetação do Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (Instituto Agronômico de Campinas) no município de Cordeirópolis, São Paulo, 2019.

Optou-se pela utilização da copa de laranja ‘Valência’ (*C. sinensis*), uma vez que de acordo com Pio et al. (2005), esta cultivar ocupa lugar de destaque entre os produtores, pela boa produtividade e adequado tamanho de frutos que se prestam ao consumo fresco e à industrialização. Já, em relação ao porta-enxerto ‘Citrumelo Swingle’, o mesmo foi adotado por ser moderadamente resistente à seca (WUTSCHER, 1990), o que implica num porta-enxerto que não é extremamente tolerante e nem pouco tolerante à seca, diminuindo sua interferência nos dados.

Posteriormente, as plantas foram separadas em dois lotes e o primeiro foi inoculado com '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (CLAs) por meio de duas borbulhas provenientes de plantas infectadas com HLB, em lados opostos da haste (infectadas, HLB+). O mesmo procedimento foi realizado para o segundo lote, onde as plantas foram enxertadas (o tipo de enxertia adotada foi a do "T" invertido) com borbulhas saudáveis para HLB e outros patógenos (sadias, HLB-).

#### 4.1. Fase de primeiro fluxo vegetativo

Para fins de padronização, todas as plantas foram podadas para que tivessem 7 folhas no momento da inoculação. A partir desse momento, se permitiu o desenvolvimento de apenas duas brotações por planta (primeiro fluxo vegetativo), os quais foram identificados (Figuras 1 e 2). Tais brotações tiveram o seu crescimento acompanhado por medidas biométricas de número de folhas, comprimento do broto e comprimento da nervura central da folha mais próxima a base da brotação.



**Figura 2.** Organização do experimento conduzido em casa de vegetação do Centro de Citricultura "Sylvio Moreira" (Instituto Agrônomo de Campinas) no município de Cordeirópolis, São Paulo, 2019.

Semanalmente, foram medidos os níveis de clorofila nas folhas por meio do índice SPAD, utilizando o SPAD-502 (Medidor de Clorofila - Konica Minolta Holding Inc., Tokyo, Japão). Quando os ramos estavam completamente desenvolvidos e com valores de índice SPAD estáveis (ramos maduros), foram coletadas amostras para a

obtenção do título bacteriano ( $C_T$ ) das plantas infectadas. As plantas + (infectadas) apresentaram um  $C_T$  médio de  $22,51^{\pm 0,54}$  e, portanto, testaram positivas para HLB (detalhes no item 4.2.). Em seguida, tanto as plantas HLB+ como as HLB- foram divididas em dois grupos: (i) irrigação plena (full irrigation - FI) - os vasos eram irrigados até a saturação, três vezes por semana; (ii) déficit de irrigação (deficient irrigation - DI) - os vasos eram irrigados com 40% do volume de água aplicado no tratamento FI. Sendo assim, em cada evento de irrigação, era aplicado um volume conhecido de água por vaso FI, até que houvesse escoamento de água pelo fundo dos vasos. Este procedimento era realizado com antecedência em vasos suplementares, para que fosse possível identificar o volume adequado de água a ser aplicado nas plantas do experimento e evitar a lixiviação de nutrientes. O volume de água coletado pelo fundo do vaso foi medido em proveta e, por diferença, foi calculado o volume de água necessário para saturar os vasos FI e o volume a ser aplicado nos vasos DI. Os volumes de água aplicados foram registrados ao longo de todo o experimento.

#### **4.2. Fase de segundo fluxo vegetativo**

Com o início da aplicação dos tratamentos de irrigação, permitiu-se o desenvolvimento de duas novas brotações a partir das anteriores (segundo fluxo vegetativo) (Figuras 1 e 2), que tiveram o seu crescimento acompanhado como descrito no item 4.1..

Quando as novas brotações estavam completamente desenvolvidas (75 dias após o início dos tratamentos de irrigação), realizaram-se as seguintes avaliações:

a) parâmetros de trocas gasosas: foi utilizado um analisador de gás infravermelho-IRGA 6800 LI-COR (LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA) para obtenção da taxa fotossintética líquida ( $A_{net}$ ), transpiração ( $E$ ), condutância estomática ( $g_s$ ) e da relação entre a taxa fotossintética líquida e a concentração interna de  $CO_2$  ( $A/C_i$ ), todos a  $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . O valor de  $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  foi o ponto de saturação luminoso, obtido a partir da curva de luz que continha as seguintes densidades de fluxo de fótons fotossintéticos (DFFF) em  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ : 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 800, 1200, 1500. Para a obtenção da curva de luz, o IRGA 6800 LI-COR foi utilizado como descrito em Shapiro et al. (2004), levando em consideração as precauções relatadas por Pons e Welschen (2002). Um controlador

de injeção de CO<sub>2</sub> foi utilizado para manter uma concentração constante de CO<sub>2</sub> de 400 ppm na câmara do IRGA, o qual tem uma área de análise de 6 cm<sup>2</sup> e é equipado com uma fonte de luz vermelho-azul emitida por LED (light emitting diodes). Todas as medições de trocas gasosas foram realizadas no período da manhã, com umidade relativa de 45% e temperatura do ar de 30 °C (o próprio equipamento garante essas condições).

b) eficiência intrínseca no uso da água (intrinsic water use efficiency - iWUE) e eficiência no uso da água (water use efficiency - WUE): foram obtidas a partir das relações entre a taxa fotossintética líquida ( $A_{net}$ ) e a condutância estomática ( $g_s$ ) ( $A_{net}/g_s$ ) e a transpiração ( $E$ ) ( $A_{net}/E$ ), respectivamente. A iWUE consiste no quanto de CO<sub>2</sub> é assimilado por abertura estomática e a WUE consiste na quantidade de CO<sub>2</sub> que é assimilado por unidade de água que é perdida.

c) massa foliar específica (g cm<sup>-2</sup>): foram coletados três discos foliares de área conhecida (0,20 cm<sup>2</sup>; 5 mm de diâmetro) por planta, que foram posteriormente secos em estufa de ventilação forçada (72 h à 65 °C) para obtenção da massa foliar específica [massa seca dos discos (g) / área (cm<sup>2</sup>)].

d) volume de raízes: com uso de uma proveta graduada, as raízes foram inseridas em volume conhecido de água e o volume de raízes foi determinado por deslocamento do líquido após imersão das raízes.

e) área foliar: foi determinada utilizando o medidor de área modelo 3100 (Li-Cor. Biosciensis, Lincoln, Nebraska EUA).

f) título bacteriano em folhas e raízes ( $C_T$ ): o  $C_T$  das folhas do primeiro e do segundo fluxos de crescimento e das raízes foi determinado ao final do experimento. A extração de DNA foi realizada de acordo com o método CTAB originalmente descrito em Murray e Thompson (1980). Em seguida, foi procedida a avaliação por PCR em tempo real (q-PCR) como descrito em (HONG et al., 2010). Os resultados foram expressos em números de ciclos de PCR ( $C_T$ ) no qual as emissões dos *reporters* atingem um valor acima do limite. Os valores de  $C_T$  são inversamente proporcionais a concentração de bactérias nas amostras, sendo que plantas com valores de  $C_T$  abaixo de 36 foram considerados positivos para CLas (infectadas, HLB+) (AMMAR et al., 2011; COLETTA-FILHO et al., 2014; CANALE et al., 2017). A quantidade de DNA amplificado é diretamente proporcional à quantidade de DNA alvo inicial da amostra, permitindo a quantificação do produto na fase exponencial (TICHOPAD et al., 2003). Cada amostra gera um número de  $C_T$  ("cycle threshold"), que é o número de ciclos em



que a amostra gera fluorescência superior ao limiar de detecção da reação (threshold). O valor de  $C_T$  é inversamente proporcional à quantificação do DNA, ou seja, quanto menor o valor de  $C_T$ , maior é a quantidade de DNA alvo da amostra (TICHOPAD et al., 2003).

g) teores de amido e de açúcares solúveis (maltose, glicose, frutose e sacarose) em folhas: amostras de folhas foram coletadas em  $N_2$  líquido e armazenadas a  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  para parar o metabolismo. O teor de amido foi determinado por meio de sua solubilização e posterior conversão em glicose e quantificação enzimática como descrito em Smith e Zeeman (2006). O teor de maltose em folhas foi determinado utilizando o método baseado em maltase, como descrito em Smirnova et al. (2017). Os teores de glicose, frutose e sacarose em folhas foram determinados por meio do método de Viola e Davies (1992) adaptado por Thalmann et al. (2016).

h) teor de nutrientes: foram determinados os teores de macro (N, P, K, Ca, Mg e S) e de micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn) das folhas do fluxo mais jovem (segundo fluxo) de crescimento e das raízes, conforme descrito por Bataglia et al. (1983).

i) massa seca: o material vegetal foi dividido em folhas, ramos e raízes para a obtenção das respectivas massas secas após secagem do material em estufa de ventilação forçada, à  $65\text{ }^\circ\text{C}$  por um período de 72 h.

### **4.3. Adubação de manutenção**

A adubação de manutenção foi realizada conforme o programa de fertirrigação para plantas de citros cultivadas em vaso com substrato, desenvolvido e adotado pelo Centro de Citricultura “Sylvio Moreira” (Instituto Agrônomo de Campinas). A solução nutritiva foi preparada conforme as informações da Tabela 1.

**Tabela 1.** Fontes e doses de macro e micronutrientes utilizadas na adubação de manutenção de mudas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’.

<b>Fertilizante</b>	<b>Dose (g/planta/mês)</b>
Nitrato de Cálcio	3,74
Sulfato de Magnésio	0,93
Nitrato de Amônio	2,15
Fosfato de Potássio	1,21
Sulfato de Amônio	0,55
Cloreto de Cálcio	0,55
Molibdato de Sódio	0,008
Ferro EDTA	0,041
Ácido Bórico	0,016
Sulfato de Manganês	0,0082
Sulfato de Cobre	0,0085
Sulfato de Zinco	0,0082

Os fertilizantes foram pesados e diluídos em água normal (torneira) em galão de 60 L. O nitrato de cálcio foi solubilizado com antecedência, para evitar a formação de composto insolúveis (precipitados), principalmente com fosfatos e sulfatos. A cada 30 dias a partir do transplântio, foram aplicados 150 mL de solução nutritiva por vaso. Todas as plantas foram igualmente adubadas ao longo de todo período experimental e não houve aplicação dos tratamentos de água nas ocasiões da adubação com solução nutritiva.

#### **4.4. Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema de parcelas subdivididas com duas condições de infecção (plantas HLB+ e HLB-) x dois manejos de irrigação (FI e DI), com oito repetições. Os resultados foram analisados pelo teste t de Student ( $p < 0,05$ ) com o uso do software ASSISTAT 7.0 BETA.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Produção de biomassa e área foliar

De modo geral, o tratamento DI acarretou a redução na produção de biomassa, tanto em plantas HLB+, como em plantas HLB- (Tabela 2). Entretanto, tais reduções foram menos pronunciadas em plantas HLB+. De fato, não foram observadas diferenças significativas entre plantas HLB+ FI e HLB+ DI para relação raiz:parte aérea, área foliar e massa seca de ramo e de raiz (Tabela 2). O HLB também causou efeitos negativos sobre a produção de biomassa das plantas. As plantas HLB+ FI apresentaram menores valores de massa seca de ramo, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e área foliar em comparação com plantas HLB- FI. Segundo Bové (2006), as plantas jovens infectadas com a doença apresentam acentuada limitação ao desenvolvimento e produção, o que foi constatado no presente estudo. Com a evolução da doença, há intensa desfolha dos ramos afetados e os sintomas começam a aparecer em outros ramos da planta, tomando toda a copa, inclusive com a seca e morte de ponteiros (SANTOS FILHO et al., 2009).

**Tabela 2.** Parâmetros biométricos de mudas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

Parâmetros biométricos	HLB +		HLB-		CV (%)
	FI	DI	FI	DI	
Massa seca de folha (g)	25,8 <sup>aA</sup>	19,2 <sup>aB</sup>	29,3 <sup>aA</sup>	19,7 <sup>aB</sup>	13,8
Massa seca de ramo (g)	40,7 <sup>bA</sup>	36,3 <sup>aA</sup>	57,1 <sup>aA</sup>	37,4 <sup>aB</sup>	8,3
Massa seca de parte aérea (g)	66,4 <sup>bA</sup>	55,5 <sup>aB</sup>	86,4 <sup>aA</sup>	57,1 <sup>aB</sup>	13,5
Massa seca de raiz (g)	34,7 <sup>bA</sup>	40,7 <sup>bA</sup>	62,1 <sup>aA</sup>	50,2 <sup>aB</sup>	16,4
Relação raiz:parte aérea	0,5 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	0,7 <sup>ns</sup>	0,9 <sup>ns</sup>	17,6
Área foliar (cm <sup>2</sup> )	1464,5 <sup>bA</sup>	1304,4 <sup>aA</sup>	2101,5 <sup>aA</sup>	1359,1 <sup>aB</sup>	17,4
Massa foliar específica (g cm <sup>-2</sup> )	0,014 <sup>aA</sup>	0,01 <sup>aB</sup>	0,01 <sup>bA</sup>	0,01 <sup>aA</sup>	18,9
Volume de raiz (dm <sup>3</sup> )	0,08 <sup>bA</sup>	0,10 <sup>bA</sup>	0,18 <sup>aA</sup>	0,13 <sup>aB</sup>	19,0

As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade; ns indica ausência de diferença significativa.

O transporte de água em plantas HLB+ FI foi limitado não apenas pelo crescimento reduzido, mas também por  $g_s$  e E mais baixos (Figura 3 C e 3 D). A área foliar também foi menor em plantas HLB+ FI do que em plantas HLB- FI (Tabela 2), o que reduz a transpiração total dos ramos (GALVEZ et al., 2011; PEDROSO et al., 2014). Desse modo, os efeitos estomáticos (Figura 3 C e 3 D), em combinação com sistema radicular e área foliar reduzidos (Tabela 2), diminuíram a absorção de água em plantas HLB+ FI.

Recentemente, foi relatado que árvores de laranjeira Valência (*Citrus sinensis*) com quatro anos de idade, infectadas com HLB e em porta-enxerto de Citrumelo Swingle (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*) mostraram uma redução de 31% e 38% na densidade da massa radicular para pré-sintomáticos e árvores sintomáticas, respectivamente, em comparação com árvores saudáveis (JOHNSON et al., 2012).

Plantas HLB+ FI apresentaram valores de massa foliar específica maiores do que plantas HLB+ DI (Tabela 2).

## 5.2. Teores de nutrientes em folhas e raízes

Com exceção do Cu, foi possível observar uma redução nos teores de macro e micronutrientes foliares das plantas HLB+ FI em relação às plantas HLB- FI (Tabela 3). As principais funções do Cu estão relacionados com a fotossíntese e atividade de enzimas. Cerca de 70% do cobre das folhas está nos cloroplastos como proteínas complexas. Uma delas, a plastocianina, participa do fluxo de transporte eletrônico, unindo os dois sistemas fotoquímicos (MALAVOLTA et al., 1997). De maneira semelhante, foram observados menores teores foliares de N, Ca, Mg, K, Zn e Fe em plantas HLB+ DI em relação às plantas HLB- DI (Tabela 3). De modo geral, foi possível notar que DI também reduziu os teores foliares de N, Ca, K, Zn e B em plantas HLB- (Tabela 3).

Considerando os efeitos comuns do HLB na produção de citros como resultado da absorção prejudicada de água e nutrientes por raízes, uma vez que o sistema radicular acaba sendo prejudicado, é possível observar disfunções fisiológicas e estado nutricional desequilibrado das plantas (MCCLEAN e SCHWARZ, 1970;

GRAÇA, 1991; JAGOUEIX et al., 1994; BOVÉ, 2006; BATOOL et al., 2007; ETXEBERRIA et al., 2009; FAN et al., 2010; BASSANEZI et al., 2011; MARTINELLI et al., 2012; LIAO e BURNS, 2012; DALA PAULA et al., 2019; JOHNSON et al., 2014). Plantas cítricas infectadas com HLB desenvolvem sintomas gerais de deficiência nutricional nas folhas, ramos e frutos (GRAÇA, 1991). Alguns sintomas foliares da doença se assemelham a deficiência intensa de nutrientes como Fe e Zn (BOVÉ, 2006; LOPES & FRARE, 2008). Os sintomas visuais em folhas no estágio inicial de infecção do HLB se assemelham aos induzidos por deficiências de Zn, Fe e Mg. Além disso, alguns desses sintomas estão relacionados ao acúmulo de amido nas folhas, que também é uma resposta geral das plantas às deficiências de Ca, Mg e Zn (MATTOS JUNIOR et al., 2020). Os sintomas de deficiência de Mg se manifestam nas folhas maduras, através de áreas cloróticas internervais ao longo da nervura principal (MALAVOLTA e KLIEMANN, 1985). Em estágios avançados, toda a folha pode se tornar clorótica, permanecendo verde uma pequena área próxima ao pecíolo. Os citros com deficiência de Fe apresentam folhas novas delgadas, clorose internerval pálida e reticulado fino verde. Nos casos de deficiência aguda, toda a folha torna-se amarela, com áreas necróticas; há queda das folhas da extremidade dos ramos, acompanhada de morte descendente (MALAVOLTA e KLIEMANN, 1985). Neste presente estudo, plantas infectadas por HLB apresentaram menores teores foliares de Fe (Tabela 3). No entanto, independentemente dos tratamentos, as plantas demonstraram teores adequados de Fe, uma vez que a faixa adequada varia de 50 a 120 mg kg<sup>-1</sup> (RAIJ et al., 1997).

O teor de Zn nas plantas sadias mostrou-se maior. No entanto, todas as plantas, sem exceção de tratamentos, apresentaram teores abaixo dos adequados, uma vez que, segundo Raij et al. (1997), a faixa varia de 25 a 100 mg kg<sup>-1</sup>. Plantas cítricas com carência de Zn brotam menos e ficam com enfolhamento velho e pouco vigoroso, com redução do crescimento da copa e da produção (QUAGGIO et al., 2003). Foi possível verificar visualmente deficiência de Zn nas folhas.

De acordo com o Raij et al (1997), nas folhas de citros a concentração de N adequada varia de 23 a 27 g kg<sup>-1</sup>. Apesar do efeito negativo da doença sobre as plantas, os teores de N estiveram dentro dos níveis adequados para citros (Tabela 3), concluindo que há uma diferença entre plantas sadias e infectadas, porém não o suficiente para afetar o nível do elemento na planta.

A manutenção do turgor celular requer a presença do íon K, responsável pela abertura estomática, fundamental para a captação do CO<sub>2</sub>. Logo, a deficiência de K leva ao fechamento dos estômatos, redução do fluxo CO<sub>2</sub> na folha, restrição fotossintética e menor acúmulo de sacarose e matéria seca (CASTRO, 2000). As plantas infectadas demonstraram menor condutância estomática (Figura 3C) e menores teores de K quando comparado às plantas sadias (Tabela 3), mas apresentam teores foliares adequados de K, uma vez que nas folhas de citros a concentração de K adequada varia de 10 a 15 g kg<sup>-1</sup> (RAIJ et al., 1997).

**Tabela 3.** Teores de nutrientes foliares de laranja 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

Nutrientes	HLB +		HLB-		CV (%)
	FI	DI	FI	DI	
N (g kg <sup>-1</sup> )	24,6 <sup>bB</sup>	28,0 <sup>bA</sup>	37,4 <sup>aA</sup>	33,6 <sup>aB</sup>	8,6
P (g kg <sup>-1</sup> )	1,3 <sup>bB</sup>	1,7 <sup>aA</sup>	1,8 <sup>aA</sup>	1,8 <sup>aA</sup>	5,2
K (g kg <sup>-1</sup> )	15,6 <sup>bA</sup>	15,3 <sup>bA</sup>	22,1 <sup>aA</sup>	17,6 <sup>aB</sup>	6,1
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	9,5 <sup>bB</sup>	16,5 <sup>bA</sup>	23,6 <sup>aA</sup>	21,4 <sup>aB</sup>	10,5
Mg (g kg <sup>-1</sup> )	2,4 <sup>bB</sup>	3,7 <sup>bA</sup>	4,3 <sup>aA</sup>	4,6 <sup>aA</sup>	7,9
S (g kg <sup>-1</sup> )	1,6 <sup>bB</sup>	3,1 <sup>aA</sup>	3,2 <sup>aA</sup>	3,0 <sup>aA</sup>	13,4
B (mg kg <sup>-1</sup> )	25,5 <sup>bA</sup>	24,1 <sup>aA</sup>	38,0 <sup>aA</sup>	29,5 <sup>aB</sup>	18,0
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	4,5 <sup>ns</sup>	4,1 <sup>ns</sup>	4,9 <sup>ns</sup>	6,6 <sup>ns</sup>	39,5
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	46,0 <sup>bB</sup>	66,2 <sup>bA</sup>	102,0 <sup>aA</sup>	107,0 <sup>aA</sup>	13,4
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	21,1 <sup>bB</sup>	41,6 <sup>aA</sup>	36,2 <sup>aA</sup>	43,0 <sup>aA</sup>	7,1
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	14,4 <sup>bA</sup>	7,6 <sup>bB</sup>	17,1 <sup>aA</sup>	13,5 <sup>aB</sup>	16,1

As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade; ns indica ausência de diferença significativa; N - nitrogênio, P - fósforo, K - potássio, Ca - cálcio, Mg - magnésio, S - enxofre, B - boro, Cu - cobre, Fe - ferro, Mn - manganês e Zn - zinco.

As plantas infectadas apresentaram menores teores foliares de Ca (Tabela 3). Malavolta (1987) afirmou que o Ca estimula o desenvolvimento das raízes, aumenta a resistência a pragas e doenças, auxilia na fixação de N e aumenta o pegamento da florada. A carência de Ca leva à formação de raízes mal desenvolvidas, atraso no desenvolvimento da planta e morte descendente dos ramos (MAGALHÃES, 2006).

Assim, pode-se justificar que plantas infectadas apresentaram taxas de transpiração baixas (Figura 3D), uma vez que as raízes podem estar comprometidas (SACCINI, 2013). É válido mencionar que todas as plantas, independentemente das condições de sanidade e de disponibilidade hídrica, apresentaram deficiência de Ca. Segundo Raij et al. (1997), o teor adequado de Ca nas folhas de laranjas varia de 35 a 45 g kg<sup>-1</sup>.

Plantas sadias apresentaram maiores teores de Mg quando comparadas às plantas infectadas. Isto pode estar relacionado com a redução do fluxo de seiva do floema devido ao acúmulo de caloses nas plantas infectadas, o que impede que alguns elementos sejam redistribuídos ou, então, que fiquem acumulados em algumas partes das plantas (SACCINI, 2013). No entanto, é importante relatar que as plantas sadias e infectadas apresentam teores adequados de Mg nas folhas, já que a faixa adequada varia de 2,5 a 4,0 g kg<sup>-1</sup> (RAIJ et al., 1997).

Estes resultados mostraram que os problemas de absorção, transporte e redistribuição estiveram presentes nas plantas com o HLB. A redução dos teores de alguns nutrientes em plantas com o HLB pode ser relacionado a uma redução da absorção pelas raízes devido à transpiração reduzida acarretada pela doença (SACCINI, 2013). Entretanto, dentro do grupo de plantas HLB+, o DI aumentou a concentração foliar de N, Ca, Mg, P, S, Mn e Fe em relação às plantas FI (Tabela 3). Em resumo, plantas infectadas com HLB possuem uma drástica redução no teor de nutrientes foliares. Porém, tal redução é menos pronunciada em plantas HLB+ sob DI.

Em relação aos teores de nutrientes nas raízes (Tabela 4), foram observadas menos diferenças do que em relação aos teores foliares. Ainda assim, houve redução nos teores de Mg, P e B em plantas HLB+ FI em relação a plantas HLB– FI (Tabela 4). A infecção por patógenos causadores da doença, além de afetar a absorção, assimilação, transporte e utilização de nutrientes pela planta (MARSCHNER, 1995), pode imobilizar nutrientes na rizosfera ou em tecidos infectados, ou interferir no transporte de nutrientes pela planta pela obstrução e por danos causados ao sistema de vasos condutores (DORDAS, 2008; SPANN e SCHUMANN, 2009), e mesmo causar deficiência ou toxicidade pela utilização dos nutrientes (HUBER e GRAHAM, 1999). Entretanto, plantas HLB+ DI apresentaram maiores teores radiculares de Mg, P, S e Fe em relação às plantas HLB– DI (Tabela 4). Plantas HLB+ DI também apresentaram maiores teores radiculares desses mesmos nutrientes em relação às

plantas HLB+ FI (Tabela 4), mostrando que o DI pode também apresentar um efeito positivo sobre os teores de nutrientes radiculares em relação às plantas FI.

**Tabela 4.** Teores de nutrientes de raízes de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

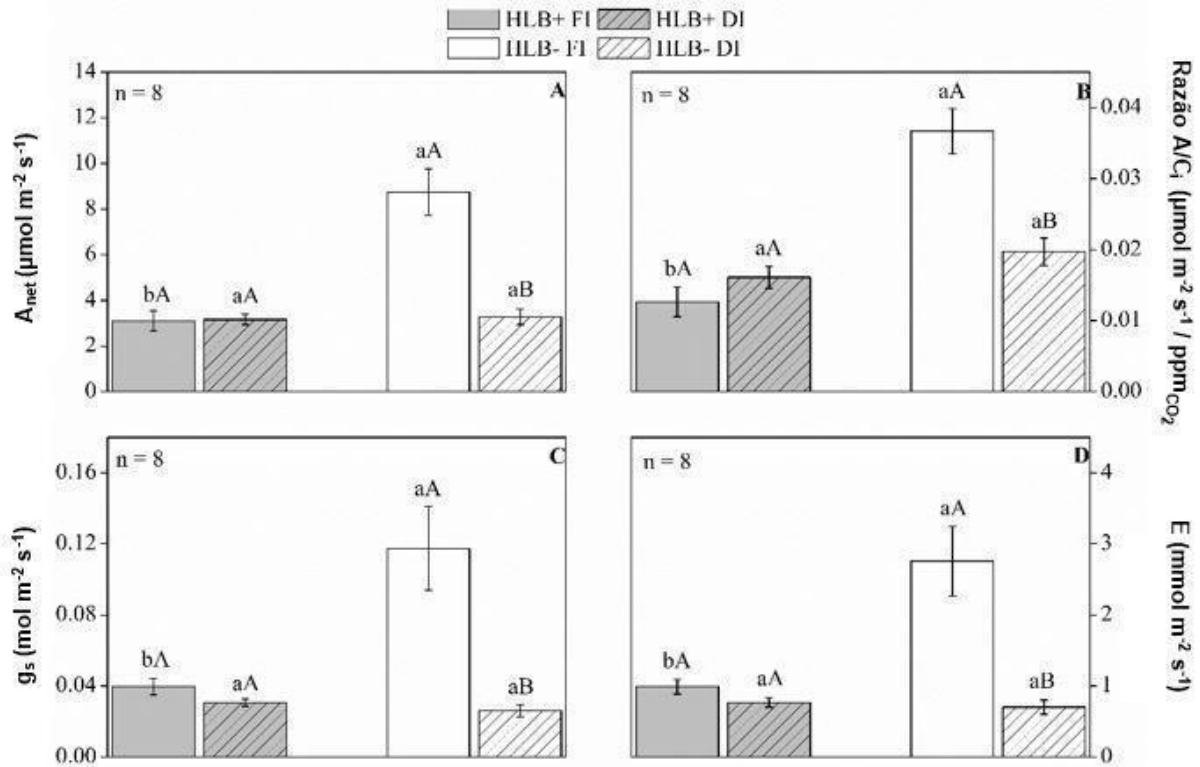
Nutrientes	HLB +		HLB-		CV (%)
	FI	DI	FI	DI	
N (g kg <sup>-1</sup> )	27,2 <sup>ns</sup>	23,9 <sup>ns</sup>	28,6 <sup>ns</sup>	23,4 <sup>ns</sup>	10,0
P (g kg <sup>-1</sup> )	2,2 <sup>bB</sup>	3,2 <sup>aA</sup>	2,7 <sup>aA</sup>	2,5 <sup>bA</sup>	18,5
K (g kg <sup>-1</sup> )	28,6 <sup>ns</sup>	25,5 <sup>ns</sup>	31,8 <sup>ns</sup>	26,1 <sup>ns</sup>	11,9
Ca (g kg <sup>-1</sup> )	10,5 <sup>ns</sup>	10,7 <sup>ns</sup>	10,9 <sup>ns</sup>	10,7 <sup>ns</sup>	9,2
Mg (g kg <sup>-1</sup> )	3,4 <sup>bB</sup>	4,0 <sup>aA</sup>	4,4 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>bB</sup>	11,7
S (g kg <sup>-1</sup> )	3,4 <sup>aB</sup>	3,8 <sup>aA</sup>	3,6 <sup>aA</sup>	3,3 <sup>bA</sup>	10,0
B (mg kg <sup>-1</sup> )	16,3 <sup>bA</sup>	16,9 <sup>aA</sup>	18,5 <sup>aA</sup>	15,4 <sup>aB</sup>	11,1
Cu (mg kg <sup>-1</sup> )	4,3 <sup>ns</sup>	4,9 <sup>ns</sup>	3,5 <sup>ns</sup>	4,3 <sup>ns</sup>	12,4
Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	229,8 <sup>aB</sup>	574,5 <sup>aA</sup>	294,8 <sup>aB</sup>	455,0 <sup>bA</sup>	22,2
Mn (mg kg <sup>-1</sup> )	359,6 <sup>ns</sup>	289,4 <sup>ns</sup>	269,2 <sup>ns</sup>	274,1 <sup>ns</sup>	17,4
Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	146,3 <sup>ns</sup>	155,9 <sup>ns</sup>	147,2 <sup>ns</sup>	146,1 <sup>ns</sup>	22,7

As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade; ns indica ausência de diferença significativa; N - nitrogênio, P - fósforo, K - potássio, Ca - cálcio, Mg - magnésio, S - enxofre, B - boro, Cu - cobre, Fe - ferro, Mn - manganês e Zn - zinco.

### 5.3. Trocas gasosas

Plantas HLB- FI demonstraram maiores taxas de  $A_{net}$ , que foram associados a maiores valores de  $A/C_i$ ,  $g_s$  e  $E$  (Figura 3), indicando que tanto o HLB como o DI comprometeram as trocas gasosas das plantas. No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada entre os tratamentos HLB+ FI e HLB+ DI, o que mostra que o déficit de irrigação não intensificou quaisquer efeitos negativos sobre as trocas gasosas em plantas infectadas (Figura 3).



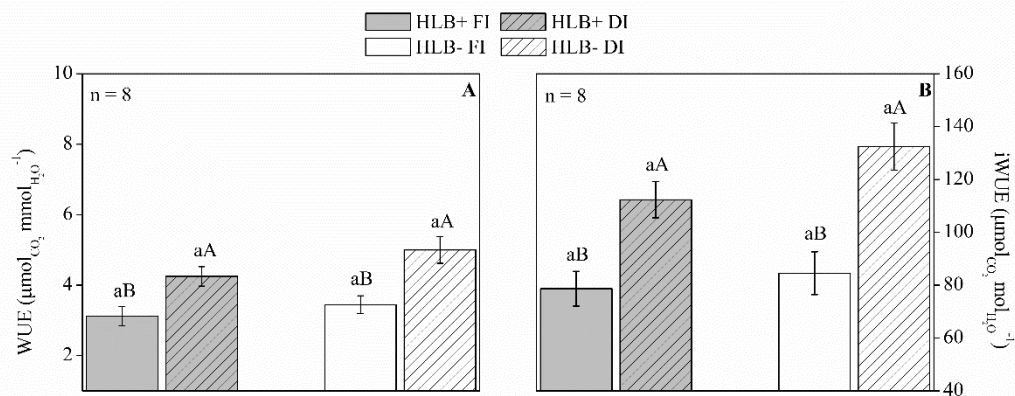


**Figura 3.** Valores de taxa fotossintética líquida ( $A_{net}$ ) (A), relação  $A/C_i$  (B), condutância estomática ( $g_s$ ) (C) e transpiração (E) (D) em plantas de laranja ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB–) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão.

A deficiência no suprimento hídrico pode conduzir ao fechamento estomático e ao movimento de folhas, mecanismos estes que evitam perda de água (OSMOND et al., 1987). Sob estresse hídrico, as plantas também podem alterar a espessura, a área foliar e características anatômicas (LAMBERS et al., 1998), assim como a taxa de transpiração, a condutância estomática e a taxa fotossintética (CALBO e MORAES, 2000). A baixa quantidade de água no substrato pode influenciar a expansão celular, a regulação estomática, fotossíntese, respiração, translocação de substâncias e a síntese da parede celular, levando à redução da taxa de crescimento e a mudanças no padrão de translocação (STEINBERG et al., 1990).

Ambos os tratamentos DI apresentaram maiores valores de WUE e iWUE em relação aos respectivos tratamentos FI (Figura 4). Entretanto, não foi observada quaisquer diferenças entre plantas HLB+ e HLB- dentro do mesmo manejo de irrigação (Figura 4).

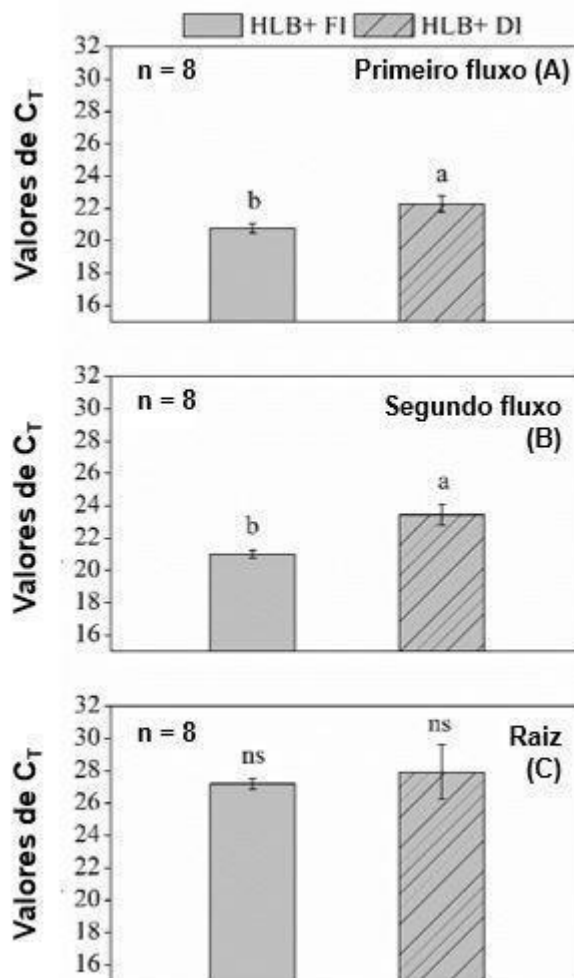
Condições propícias à fixação de carbono favorecem a abertura do estômato, enquanto condições propícias à perda de água favorecem o fechamento. A regulação da abertura estomática ocorre por mecanismos complexos (RASCHKE, 1979), parecendo agir, no entanto, no sentido de minimizar as perdas de água, limitando de forma menos intensa o influxo de CO<sub>2</sub> (COWAN e TROUGHTON, 1971). Dependendo da sensibilidade dos estômatos às concentrações de CO<sub>2</sub>, as respostas das plantas à assimilação podem ser diferenciadas. Em alguns experimentos percebeu-se que diante de altas concentrações de CO<sub>2</sub> existia uma diminuição na abertura dos estômatos e uma conseqüente menor perda de água pela planta. Com a redução da transpiração ou perda de água, ocorre maior eficiência fotossintética no uso da água e conseqüentemente um provável aumento na produtividade vegetal (SHUGART et al., 1986). No entanto, o DI pode provocar o fechamento estomático e, conseqüentemente, a absorção de CO<sub>2</sub> é restringida. Assim, a redução no suprimento de água limita a fotossíntese reduzindo a área foliar e a própria absorção de CO<sub>2</sub>.



**Figura 4.** Eficiência no uso da água (WUE) (A) e eficiência intrínseca no uso da água (iWUE) (B) em plantas de laranja ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão.

#### 5.4. Título bacteriano ( $C_T$ )

Apesar de não ter sido observadas diferenças significativas entre tratamentos para os valores de  $C_T$  das raízes, foi possível observar que plantas HLB+ FI apresentaram menores valores de  $C_T$  nas folhas, o que está associado a uma maior população de bactérias (Figura 5). Tais respostas foram observadas tanto no primeiro fluxo quanto no segundo fluxo vegetativo (Figura 5 A e 5 B). Portanto, é possível afirmar que o DI, além de causar uma diminuição na população bacteriana de regiões previamente infectadas, levou também a uma redução no progresso da doença para novas regiões de crescimento da parte aérea.



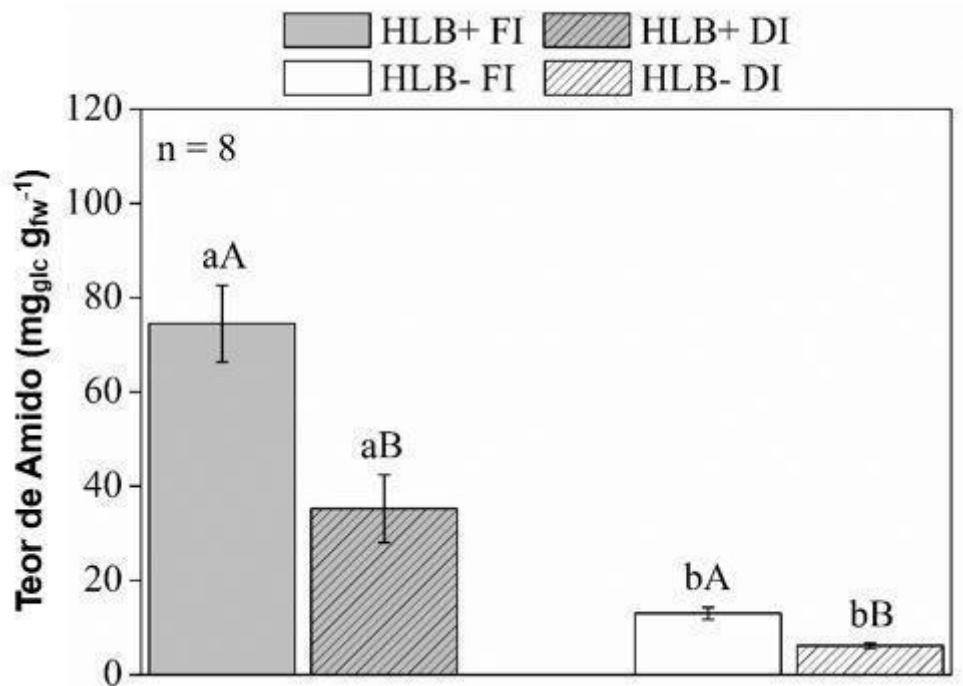
**Figura 5.** Título bacteriano ( $C_T$ ) em folhas do primeiro (A) e do segundo fluxo (B) vegetativo e de raízes (C) de plantas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ infectadas com (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou

condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão. ns indica que não houve diferença significativa.

Uma redução de 9% na população CLas foi associada ao menor conteúdo de amido no HLB+ DI em relação ao HLB+ FI (Figura 6) (ETXEBERRIA et al., 2009; SPANN e SCHUMMAN, 2009; FAN et al., 2010; JOHNSON et al., 2014; BOAVA et al., 2017). No entanto, é válido apontar que as plantas HLB+ DI ainda apresentavam altas concentrações de bactérias.

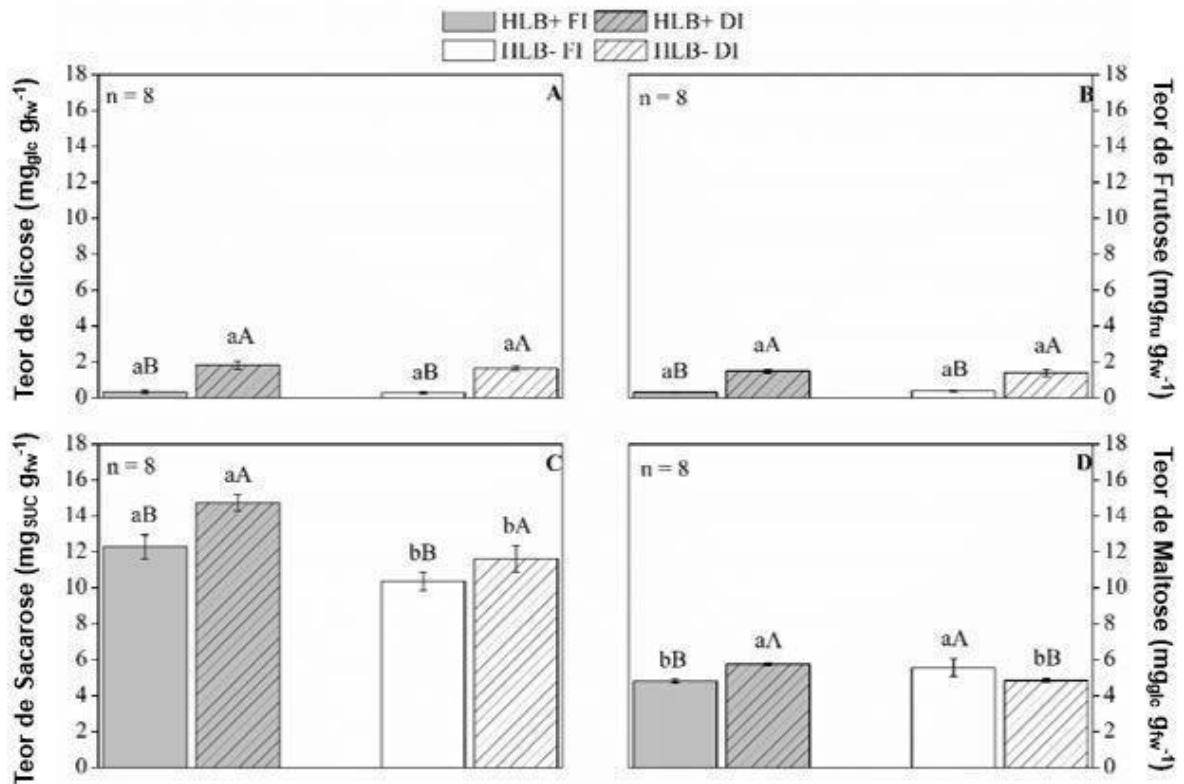
### **5.5. Teores de amido, glicose, frutose, sacarose e maltose**

Plantas HLB+ apresentaram maiores teores de amido em folha do que plantas saudas (Figura 6). Este aumento no teor de amido nas folhas das plantas infectadas com HLB foi amplamente relatado na literatura (SPANN e SCHUMMAN, 2009; ETXEBERRIA et al., 2009; FAN et al., 2010; JOHNSON et al., 2014; BOAVA et al., 2017), mas o complexo processo associado à síntese/degradação do amido não foi totalmente elucidado (GIBON et al., 2009; ETXEBERRIA et al., 2009; FAN et al., 2010). O déficit de irrigação levou a uma redução nos teores de amido em folha, tanto em plantas HLB+ como em plantas HLB- (Figura 6). A redução nos teores de amido das plantas HLB- DI em comparação com as plantas HLB- FI foi associada a uma menor taxa fotossintética do primeiro tratamento (Figura 3 A). Porém, o mesmo não pode ser afirmado em relação às plantas HLB+, uma vez que não houve diferença entre HLB+ FI e HLB+ DI para  $A_{net}$  (Figura 3 A). Sendo assim, os resultados obtidos nesta pesquisa fornecem fortes evidências de que a síntese e a degradação do amido são comprometidas/afetadas nas plantas HLB+, o que foi parcialmente mitigado pelo DI, uma vez que na literatura é possível identificar o acúmulo de amido nas folhas sem o manejo de irrigação. Vários autores indicaram que o acúmulo de amido, sacarose e glicose foi acarretado pela infecção por *Ca. L. asiaticus* (KIM et al., 2009; FAN et al., 2010).



**Figura 6.** Teor de amido em folhas de plantas de laranjeira ‘Valência’ enxertadas sobre ‘Citrumelo Swingle’ sadias (HLB–) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão.

A maior quebra de amido em folhas de plantas DI levou a um aumento nos teores de glicose, frutose e sacarose em relação aos seus respectivos tratamentos de sanidade (Figura 7 A, 7 B e 7 C). Houve aumento dos teores de maltose em plantas HLB+ DI em comparação com plantas HLB+ FI, ao passo que plantas HLB– DI apresentaram maiores valores de maltose do que plantas HLB– FI (Figura 7 D). Considerando que a maltose é o primeiro açúcar formado após a quebra do amido (WEISE et al., 2004; ZEEMAN et al., 2004; FAN et al., 2010; ARITUA et al., 2013), é possível afirmar que, de fato, ocorre uma maior quebra de amido em plantas HLB+ DI em relação às plantas HLB+ FI, o que não é observado em plantas sadias. Tal resultado reforça que o menor acúmulo de amido em plantas HLB+ DI em comparação com o tratamento HLB+ FI está associado a uma maior degradação de suas reservas e conversão em maltose.

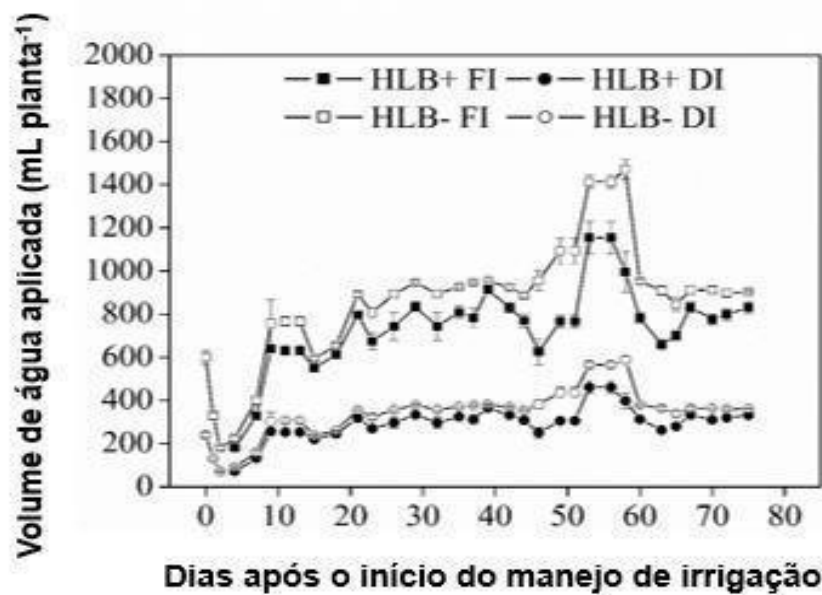


**Figura 7.** Teor glicose (A), frutose (B), sacarose (C) e maltose (D) em folhas de plantas de laranja 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI). As diferentes letras indicam diferenças significativas entre os diferentes manejos de irrigação dentro da mesma condição de sanidade (A, B) ou condição de sanidade dentro de cada manejo de irrigação (a, b), para um teste t de Student a 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão.

As reservas de carboidratos diminuem nos órgãos de armazenamento conforme as plantas são expostas à disponibilidade reduzida de água (MELTCAFE et al., 2010). Devido à capacidade fotossintética reduzida sob condições DI, açúcares solúveis da degradação do amido podem ser usados para manter a atividade metabólica da planta (DICKSON, 1991). Por isso, aumentos nos conteúdos de açúcar solúvel foram observados (VU e YELENOSKY, 1989; PINHEIRO et al., 2011; PÉREZ-PÉREZ et al., 2009; CHAVES et al., 2009; PEDROSO et al., 2014; PUGLISI et al., 2019) como mostrado em HLB+ DI (Figuras 6 e 7).

## 5.6. Quantidade de água aplicada ao longo do experimento

As plantas HLB+ necessitaram menos água para saturar o substrato do que plantas HLB- (Figura 8). Em média, plantas HLB+ consumiram 15% menos água do que plantas HLB- (Figura 8). Esse resultado está associado à reduzida capacidade de absorver água das plantas HLB+ em virtude dos danos sobre o sistema radicular (restrições de crescimento da raiz) (GRAHAM et al., 2013; KADYAMPAKENI et al., 2014; HAMIDO et al., 2016), sobre a área foliar (Tabela 1) e, conseqüentemente, sobre as taxas de evapotranspiração (Figura 3 D).



**Figura 8.** Volume de água aplicada ao longo do período experimental em plantas de laranja 'Valência' enxertadas sobre 'Citrumelo Swingle' sadias (HLB-) e infectadas (HLB+), com irrigação plena (FI) ou submetidas ao déficit de irrigação (DI).

Portanto, se faz necessário mais estudos para melhor compreensão da relação entre a infecção por HLB e disponibilidade hídrica. Foi possível notar uma diminuição na população bacteriana sob a condição de DI, informação que pode ser útil para futuras práticas de manejo em espécies que venham a ser tolerantes ao HLB. Tais modificações podem levar à reduções nas perdas de recursos, como água e, conseqüentemente, nutrientes via lixiviação.

## 6. CONCLUSÃO

As plantas infectadas com HLB e submetidas ao déficit de irrigação apresentaram vantagens fisiológicas em relação às infectadas sob irrigação plena, tais como: menor acúmulo de amido e maior conteúdo de açúcares solúveis em folhas; maior eficiência no uso da água; maiores teores de macro e micronutrientes na parte aérea. Tais respostas em plantas sob déficit hídrico foram associadas à diminuição na população bacteriana em partes da planta previamente infectadas, bem como na desaceleração do progresso da doença para novas partes da copa que se desenvolveram após a infecção com HLB. A diminuição na população bacteriana sob condição mais restrita de suprimento de água é importante informação para futuras práticas de manejo com espécies que venham a ser tolerantes ao HLB, haja vista a série de respostas fisiológicas sob déficit de irrigação.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMMAR, E.-D.; SHATTERS, R. G.; JR LYNCH, C.; HALL, D. G. Detection and relative titer of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in the salivary glands and alimentary canal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) vector of citrus huanglongbing disease. **Annals of the Entomological Society of America**, Oxford, v. 104, n. 3, p. 526-533, 2011.
- 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**, San Francisco, v. 8, n. 9, p. e73742, 2013.
- BASSANEZI, R. B. et al. Yield loss caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, London, v. 130, n. 4, p. 577-586, 2011.
- BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L. H.; BUSATO, L. A.; STUCHI, E. S. Damages caused by huanglongbing on sweet orange yield and quality in São Paulo. *In*: HUANGLONGBING-GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, 2006, Ribeirão Preto. **Proceedings** [...]. Ribeirão Preto: Fundecitros, 2006. p. 39.
- BASSANEZI, R. B.; MONTESINO, L. H.; STUCHI, E. S. Effects of Huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, London, v. 125, n. 4, p. 565-572, 2009.
- BASTOS, D. C.; FERREIRA, E. A.; PASSOS, O. S.; SÁ, J. F. de; ATAÍDE, E. M.; CALGARO, M. Cultivares copa e porta-enxertos para a citricultura brasileira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.35, n.281, p.36-45, 2014.
- BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico, 1983. 48 p. (Boletim Técnico, 78).
- BATOOL, A.; IFTIKHAR, Y.; MUGHAL, S. M.; KHAN, M. M.; JASKANI, M. J.; ABBAS, M.; KHAN, I. A. Citrus greening disease – A major cause of citrus decline in the world – A review. **HortScience**, Alexandria, v. 34, n. 4, p. 159-166, 2007.
- BELASQUE JUNIOR, J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R. B.; BARBOSA, J. C.; FERNANDES, N. G.; YAMAMOTO, P. T.; LOPES, S. A.; MACHADO, M. A.; LEITE JUNIOR, R. P.; AYRES, A. J.; MASSARI, C. A. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v. 34, n. 3, p. 137-145, 2009.
- BOAVA, L. P.; CRISTOFANI-YALY, M.; MACHADO, M. A. Physiologic, anatomic, and gene expression changes in *Citrus sunki*, *Poncirus trifoliata*, and their hybrids after "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" infection. **Phytopathology**, St. Paul, v. 107, n. 5, p. 590-599, 2017.

BORGES, A. G. G.; COSTA, V. M. H. M. A evolução do agronegócio citrícola paulista e o perfil da intervenção do Estado. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, Araraquara, v. 9, n. 2, p. 101-124, 2005.

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

BOYER, J. S. Biochemical and biophysical aspects of water deficits and the predisposition to disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 33, p. 151-274, 1995.

CALBO, M. E. R.; MORAES, J. A. Efeitos da deficiência de água em plantas de *Euterpe oleracea* (açai). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 225-230, 2000.

CANALE, M. C.; TOMASETO, A. F.; HADDAD, M. L.; COLETTA-FILHO, H. D.; LOPES, J. R. S. Latency and persistence of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in its psyllid vector, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Phytopathology**, St. Paul, v. 107, p. 1264-272, 2017.

CASTLE, W.S.; TUCKER, D.P.H.; KREZDORN, A.H.; YOUTSEY, C.O. **Rootstocks for Florida Citrus**, 2<sup>nd</sup> ed. Gainesville: UFLA, IFAS, Institute of Food and Agricultural Sciences, 1993. 92 p.

CASTRO, P. R. C. Aplicações da fisiologia vegetal no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE FISILOGIA DA CANA-DE-AÇÚCAR, 2000, Piracicaba. **Anais** [...]. Piracicaba: STAB, 2000. p. 1-9.

CHAVES, M. M.; FLEXAS, J.; PINHEIRO, C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. **Annals of Botany**, London, v. 103, n. 4, p. 551-560, 2009.

CIMÒ, G.; BIANCO, R. L.; GONZALEZ, P.; BANDARANAYAKE, W.; ETXEBERRIA, E.; SYVERTSEN, J. P. Carbohydrate and nutritional responses to stem girdling and drought stress with respect to understanding symptoms of Huanglongbing in citrus. **HortScience**, Alexandria, v. 48, p. 920-928, 2013.

COLETTA-FILHO, H. D.; DAUGHERTY, M. P.; FERREIRA, C.; LOPES, J. R. S. Temporal progression of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" infection in citrus and acquisition efficiency by *Diaphorina citri*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 104, n. 4, p. 416-421, 2014.

COLETTA-FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; DE NEGRI, J. D.; POMPEU, J. R.; CARVALHO, S. A.; MACHADO, M. A. First report of the causal agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 88, n. 12, p. 1382, 2004.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Laranja – Análise mensal – Abril-maio-2020**. Brasília-DF: Ministério da Agricultura e Abastecimento, 2021. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuaria-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-laranja/item/13587-laranja-analise-mensal-abril-maio-2020>>. Acesso em: 16 maio 2021.

COWAN, I. R.; TROUGHTON, J. H. The relative role of stomata in transpiration and assimilation. **Planta**, Berlin, v. 97, n. 4, p. 325-336, 1971.

DALA-PAULA, B. M.; PLOTTO, A.; BAI, J.; MANTHEY, J. A.; BALDWIN, E. A.; FERRAREZI, R. S.; GLORIA, M. B. A. Effect of huanglongbing or greening disease on orange juice quality, a review. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1976, 2019.

DICKSON, R. E.; ISEBRANDS, J. G. Leaves as regulators of stress response. In: MOONEY, H. A.; WINNER, W. E.; PELL, E. J. (Eds). **Response of plants to multiple stresses**. San Diego: Academic Press, 1991. p. 4–34.

DONATO, S. L. R.; PEREIRA, C. S.; BARROS, Z. J.; SIQUEIRA, D. L.; SALOMÃO, L. C. C. Respostas de combinações de variedades copa e porta-enxerto de citros à deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 10, p. 1507-1510, 2007.

DORDAS, C. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture: A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 28, n. 1, p. 33-46, 2008.

ETXEBERRIA, E.; GONZALEZ, P.; ACHOR, D.; ALBRIGO, G. Anatomical distribution of abnormally high levels of starch in HLB-affected Valencia orange trees. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 74, p. 76-83, 2009.

ETXEBERRIA, E.; NARCISO, C. Phloem anatomy of citrus trees: healthy vs. greening-affected. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, Alexandria, v. 125, p. 67-670, 2012.

FAN, J.; CHEN, C.; BRLANSKY, R. H.; GMITTER JR F. G.; Li, Z. G. Changes in carbohydrate metabolism in *Citrus sinensis* infected with 'Candidatus Liberibacter asiaticus'. **Plant Pathology**, San Francisco, v. 59, p. 1037-1043, 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 2015. Disponível em: <[www.fao.org.br](http://www.fao.org.br)>. Acesso em: 17 abr. 2021.

FOLIMONOVA, S. Y.; ACHO, D. S. Early events of citrus greening (huanglongbing) disease development at the ultrastructural level. **Phytopathology**, St. Paul, v. 100, n. 9, p. 949-958, 2010.

FOLIMONOVA, S. Y.; ROBERTSON, C. J.; SHILTS, T.; FOLIMONOV, A. S.; HILF, M. E.; GARNSEY, S. M.; DAWSON, W. O. Infection with strains of Citrus tristeza virus does not exclude superinfection by other strains of the virus. **Journal of Virology**, Washington, v. 84, p. 1314-1325, 2010.

FUNDECITRUS. Fundo de Defesa da Citricultura. **Levantamento da incidência das doenças dos citros: greening, CVC, cancro cítrico no cinturão citrícola de São Paulo e triângulo/sudoeste mineiro**. Araraquara, 2020. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/pdf/levantamentos/levantamento-doencas-2020.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2021.

FUNDECITRUS. Fundo de Defesa da Citricultura. **Levantamentos: greening**. Araraquara, 2015. Disponível em:

<<http://www.fundecitrus.com.br/levantamentos/greening/10>>. Acesso em: 23 jan. 2021.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Manual de entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GALVEZ, D. A.; LANDHÄUSSER, S. M.; TYREE, M. T. Root carbon reserve dynamics in aspen seedlings: does simulated drought induce reserve limitation? **Tree Physiology**, Oxford, v. 31, n. 3, p. 250-257, 2011.

GIBON, Y.; PYL, E. T.; SULPICE, R.; LUNN, J. E.; HÖHNE, M.; GÜNTHER, M.; STITT, M. Adjustment of growth, starch turnover, protein content and central metabolism to a decrease of the carbon supply when *Arabidopsis* is grown in very short photoperiods. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 32, n. 7, p. 859-874, 2009.

GOTTWALD, T. R.; GRAÇA, J. V. da; BASSANEZI, R. B. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. Online. **Plant Health Progress**, v. 8, n. 1, 2007. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHP-2007-0906-01-RV>>. Acesso em: 21 jan. 2021.

GRAÇA, J. V. da. Citrus greening disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 109-136, 1991.

GRAHAM, J. H.; JOHNSON, E. G.; GOTTWALD, T. R.; IREY, M. S. Presymptomatic fibrous root decline in citrus trees caused by huanglongbing and potential interaction with *Phytophthora* spp. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 97, n. 9, p. 1195-1199, 2013.

HALBERT, S. E. The discovery of huanglongbing in Florida. *In*: INTERNATIONAL CITRUS CANCKER AND HUANGLONGBING RESEARCH WORKSHOP, 2., 2005, Orlando. **Proceedings** [...]. Orlando: Florida Citrus Mutual, 2005. p. 50.

HAMIDO, S. A.; MORGAN, K. T.; KADYAMPAKENI, D. M. The effect of Huanglongbing on young citrus tree water use. **HortTechnology**, Alexandria, v. 27, n. 5, p. 659-665, 2017.

HAMIDO, S. A.; MORGAN, K. T.; MAHMOUD, K. A. Citrus huanglongbing impact on citrus trees biomass and nutrients uptake. *In*: ANNUAL SOIL SCIENCE SOCIETY CONFERENCE, 2016, Phoenix. **Proceedings** [...]. Madison: ASA/CSSA/SSSA, 2016. Disponível em: <<https://scisoc.confex.com/scisoc/2016am/webprogram/Paper99487.html>>. Acessado em: 21 de abr. 2021.

HASSE, G. **A laranja no Brasil 1500-1987**: A história da agroindústria citrícola brasileira, dos quintais coloniais às fábricas exportadoras de suco do século XX. São Paulo: Duprat & Lobe, 1987. 296 p.

HONG, L.; CHEN, C.; DODDAPANENI, H.; DUAN, Y.; CIVEROLO, E. L.; BAI, X.; ZHAO, X. A new diagnostic system for ultra-sensitive and specific detection and quantification of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium associated with citrus Huanglongbing. **Journal of Microbiology Methods**, Guelph, v. 81, p. 17-25, 2010.

HUBER, D. M.; GRAHAM, R. D. The role of nutrition in crop resistance and tolerance to disease, In: RENGEL, Z. (Ed.). **Mineral nutrition of crops fundamental mechanisms and implications**. New York: Food Product Press, 1999. p. 205-226.

HUBER, D. M.; HANEKLAUS, S. Managing nutrition to control plant disease. **Landbauforschung Völkenrode**, Braunschweig, v. 57, p. 313-322, 2007.

JAGOUEIX, S.; BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the subdivision of the proteobacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 44, p. 397-486, 1994.

JOHNSON, E. G.; BRIGHT, D. B.; GRAHAM, J. H. Early root infection and damage in citrus huanglongbing disease development. **Phytopathology**, St. Paul, v. 102, p. S4.59, 2012.

JOHNSON, E. G.; WU, J.; BRIGHT, D. B.; GRAHAM, J. H. Root loss on presymptomatic Huanglongbing affected trees is preceded by *Candidatus Liberibacter asiaticus* root infection but not phloem plugging. **Plant Pathology**, San Francisco, v. 63, p. 290-298, 2014.

KADYAMPAKENI, D. M.; MORGAN, K. T. Irrigation scheduling and soil moisture dynamics influence water uptake by Huanglongbing affected trees. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 224, p. 272-279, 2017.

KADYAMPAKENI, D. M.; MORGAN, K. T.; SCHUMANN, A. W.; NKEDI-KIZZA, P. Effect of irrigation pattern and timing on root density of young citrus trees infected with Huanglongbing disease. **HortTechnology**, Alexandria, v. 24, n. 2, p. 209-221, 2014.

KIM, J-S.; SAGARAM, U. S.; BURNS, J. K.; LI, J.; WANG, N. Response of sweet orange (*Citrus sinensis*) to '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection: microscopy and microarray analyses. **Phytopathology**, St. Paul, v. 99, n. 1, p. 50-57, 2009.

KOH, E. J.; ZHOU, L.; WILLIAMS, D. S.; PARK, J.; DING, N.; DUAN, Y. P.; KANG, B. H. Callose deposition in the phloem plasmodesmata and inhibition of phloem transport in citrus leaves infected with "*Candidatus Liberibacter asiaticus*". **Protoplasma**, Wien, v. 249, n. 3, p. 687-697, 2012.

KUMAR, N.; KIRAN, F.; ETXEBERRIA, E. Huanglongbing-induced anatomical changes in citrus fibrous root orders. **Hortscience**, Alexandria, v. 53, p. 829-837, 2018.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. New York: Springer-Verlag, 1998. 540 p.

LIAO, H.-L.; BURNS, J. K. Gene expression in *Citrus sinensis* fruit tissues harvested from huanglongbing-infected trees: comparison with girdled fruit. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 63, p. 3307-3319, 2012.

LIMA, C. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. p. 101. (Série Didática, 4).

LIMA, P. R. **Caracterização de miRNAs e siRNAs de citros**. 2012. 75 p. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, São Paulo, 2012.

LOPES, J. M. S.; DÉO, T. F. G.; ANDRADE, B. J. M.; GIROTO, M.; FELIPE, A. L. S.; JUNIOR, C. E. I.; BUENO, C. E. M. S.; SILVA, T. F.; LIMA, F. C. C. Importância econômica do citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça, Ano X, n. 20, 2011.

LOPES, S. A.; FRARE, G. F. Graft transmission and cultivar reaction of citrus to 'Candidatus Liberibacter americanus'. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 92, n. 1, p. 21-24, 2008.

MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. M. A.; HABERMANN, G. Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranja 'Valência'. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n.1, p. 53-58, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v59n1/8073.pdf>>. Acesso em: 3 abr. 2021. doi:10.1590/S0103-90162002000100 007.

MACHADO, E. C.; QUAGGIO, J. A.; LAGÔA, A. M. M. A.; TICELLI, M.; FURLANI, P. R. Trocas gasosas e relações hídricas em laranjeiras com clorose variegada dos citros. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 6, n. 1, p. 53-57, 1994.

MACHADO, M. A.; LOCALI-FABRIS, E. C.; COLETTA FILHO, H. D. *Candidatus Liberibacter* spp., agentes do huanglongbing dos citros. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 25-35, 2010.

MAGALHÃES, A. F. de J. **Nutrição mineral e adubação de citros irrigados**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2006. 12 p. (Circular Técnica, 79).

MALAVOLTA, E. **Manual de química agrícola: Adubos e adubação**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1987. 606 p.

MALAVOLTA, E.; KLIEMANN, H. J. **Desordens nutricionais no cerrado**. Piracicaba: POTAFOS, 1985. 136 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas: Princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2<sup>nd</sup>. ed. London: Academic Press, 1995. 889 p.

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**, San Francisco, v. 7, p. e38039, 2012.

MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; FIGUEIREDO, J. O.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros: Principais informações e recomendações de cultivo**. Cordeirópolis: Instituto Agrônomo de Campinas, 2005. Disponível em: <

[http://www.iac.sp.gov.br/imagem\\_informacoestecnologicas/43.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/43.pdf)>. Acesso em: 12 maio 2021.

MATTOS JUNIOR, D.; KADYAMPAKANI, D. M.; DA SILVA, J. R.; VASHISTH, T.; BOARETTO, R. M. Reciprocal effects of huanglongbing infection and nutritional status of citrus trees: a review. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 45, p. 586-596, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40858-020-00389-y>>. Acesso em: 01 jun. 2021.

McCLEAN, A. P. D.; SCHWARZ, R. E. Greening or blotchy-mottle disease of citrus. **Phytophactica**, Pretoria, v. 2, p. 177-194, 1970.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C. Fotossíntese de laranjeira 'Valência' enxertada sobre quatro porta-enxertos e submetida a deficiência hídrica. **Bragantia**, Campinas, v. 57, p. 15-22, 1998.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranjeira 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, p. 29-34, 1999.

MEDINA, C. L.; SACCINI, V. A. V.; SANTOS, D. M. M. dos; MACHADO, R. S.; BATAGLIA, O. C.; FURLANI, P. Seasonal concentration of macro and micronutrients in different vegetative organs of Valencia. In: INTERNATIONAL RESEARCH AND CONFERENCE ON HUANGLONGBING, 3., 2014. Orlando. **Proceedings** [...]. Riverside: University of California, 2014.

MELTCAFE, D. B.; LOBO-DO-VALE, R.; CHAVES, M. M.; MAROCO, J. P.; ARAGÃO, L. E. O. C.; MALHI, Y.; COSTA, A. L. da; BRAGA, A. P.; GONÇALVES, P. L.; ATHAYDES, J.; COSTA, M. da; ALMEIDA, S. S.; CAMPBELL, C.; MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 8, n. 19, p. 4321-4325, 2010.

MÜLLER, G. W.; TARGON, M. L. P.; CARVALHO, S. A.; SOUZA, A. A.; RODRIGUES, J. C. V. Doenças de citros causadas por vírus e viróides. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico/FUNDAG/Centro APTA Citros Sylvio Moreira, 2005. p. 567-604.

MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 8, p. 4321-4325, 1980.

NWUGO, C. C.; LIN, H.; DUAN, Y.; CIVEROLO, E. L. The effect of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection on the proteomic profiles and nutritional status of pre-symptomatic and symptomatic grapefruit (*Citrus paradisi*) plants. **BMC Plant Biology**, New York, v. 13, p. 59, 2013.

OSMOND, C. B.; AUSTIN, M. P.; BERRY, J. A.; BILLINGS, W. D.; BOYER, J. S.; DACEY, J. W. H.; NOBEL, P. S.; SMITH, S. M.; WINNER, W. E. Stress physiology and the distribution of plants. **BioScience**, Washington, v. 37, p. 38-48, 1987.

PEDROSO, F. K. J. V.; PRUDENTE, D. A.; BUENO, A. C. R.; MACHADO, E. C.; RIBEIRO, R. V. Drought tolerance in citrus trees is enhanced by rootstock-dependent

changes in root growth and carbohydrate availability. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 101, p. 26-35, 2014.

PÉREZ-PÉREZ, J. G.; ROBLES, J. M.; BOTÍA, P. Influence of deficit irrigation in phase III of fruit growth on fruit quality in "lane late" sweet orange. **Agricultural Water Management**, Amsterdam, v. 96, p. 969-974, 2009.

PINHEIRO, C.; CHAVES, M. M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 3, p. 869-882, 2011.

PIO, R. M.; FIGUEIREDO, J. O. de; STUCHI, E. S.; CARDOSO, S. A. de B. Variedades copas. In: MATTOS JUNIOR, D. de; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. p. 37-60.

POMPEU JÚNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O., VIEGAS, F.C.P., POMPEU JÚNIOR, J., et al. **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p.265-280.

PONS, T. L.; WELSCHEN, R. A. M. Overestimation of respiration rates in commercially available clamp-on leaf chambers. Complications with measurement of net photosynthesis. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 25, p. 1367-1372, 2002.

PUGLISI, I.; NICOLOSI, E.; VANELLA, D.; LO PIERO, A. R.; STAGNO, F.; SAITTA, D.; ROCCUZZO, G.; CONSOLI, S.; BAGLIERI, A. Physiological and biochemical responses of orange trees to different deficit irrigation regimes. **Plants**, Basel, v. 8, n. 10, p. 423, 2019.

QUAGGIO, J. A.; MATTOS JUNIOR, D.; CANTARELLA, H.; TANK JUNIOR, A. Fertilização com boro e zinco no solo em complementação à aplicação via foliar em laranja 'Pêra'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 5, p. 627- 634, 2003.

RAIJ, B. V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. 2. ed. rev. atual. Instituto Agrônomo/FUNDAG: Campinas, 1997. 285 p. (IAC. Boletim Técnico, 100).

RASCHKE, K. Movements using turgor mechanisms. In: HAUPT, W.; FEINLEIB, M.E. (Eds.). **Physiology of movements**. Berlin: Springer-Verlag, 1979. v. 7, p.383-441. (Encyclopedia of Plant Physiology).

REINKING, O. A. Diseases of economic plants in southern China. **Philippine Agricultural**, Manila, v. 8, p. 109-135, 1919.

SACCINI, V. A. V. **Parâmetros fisiológicos de laranjeiras com huanglongbing**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2013. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/108438/000739232.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 25 maio 2021.



SACCINI, V. A. V.; SANTOS, D. M. M. dos; MEDINA, C. L.; MACHADO, R. S.; CRUZ, F. J. R. Nutritional analysis of flowers from 'Valencia' orange trees infected with Huanglongbing. *In: INTERNATIONAL RESEARCH AND CONFERENCE ON HUANGLONGBING*, 3., 2014. Orlando. **Proceedings** [...]. Riverside: University of California, 2014.

SANTOS FILHO, H. P.; BARBOSA, F. F. L.; NASCIMENTO, A. S. do. **Greening a mais grave e destrutiva doença dos citros: nova ameaça à citricultura**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2009. 2 p. (Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. Citros em foco, 31).

SANTOS, M. Reação de 16 porta-enxertos sob laranjeira 'valência' ao agente causal, *Candidatus Liberibacter asiaticus*. 52 p. 2013. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2013. Disponível em: <[https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/92648/santos\\_m\\_me\\_jabo.pdf;jsessionid=0B3DFD1B6A2BC59D15566EC2C5FAE492?sequence=1](https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/92648/santos_m_me_jabo.pdf;jsessionid=0B3DFD1B6A2BC59D15566EC2C5FAE492?sequence=1)>. Acesso: 8 de jun. 2021.

SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A. L. C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.723-733, 2001.

SHAPIRO, J. B.; GRIFFIN, K. L.; LEWIS, J. D.; TISSUE, D. T. Response of *Xanthium strumarium* leaf respiration in the light to elevated CO<sub>2</sub> concentration, nitrogen availability and temperature. **New Phytologist**, Cambridge, v. 162, p. 377-386, 2004.

SHUGART, H. H.; MCGEE JUNIOR., C. E.; WALDROP, T. A.; BUCKNER, E. R. Forcat: a single tree model of stand development following clearcutting on the cumberland plateau. **Forest Science**, Bethesda, v. 32, n. 2, p. 297-317, June 1986. Disponível em: <<https://doi.org/10.1093/forestscience/32.2.297>>. Acesso em: 25 maio 2021.

SILVA, C. C. **Avaliação da severidade do *Citrus tristeza virus* (CTV) sob condições de estresse hídrico**. 2017. 80 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.

SMIRNOVA, J.; FERNIE, A. R.; SPAHN, C. M. T.; STEUP, M. Photometric assay of maltose and maltose-forming enzyme activity by using 4-alpha-glucanotransferase (DPE2) from higher plants. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 532, p. 72e82, 2017.

SMITH, A. M.; ZEEMAN, S. C. Quantification of starch in plant tissues. **Nature Protocols**, London, v. 1342, n. 1, p. 3, 2006.

SPANN, T. M.; SCHUMANN, A. W. The role of plant nutrients in disease development with emphasis on citrus and Huanglongbing. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Tallahassee, v. 122, p. 169-171, 2009.

STEINBERG, S. L.; MILLER, J. C.; MCFARLAND, M. J. Dry matter partitioning and vegetative growth of young peach trees under water stress. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 17, p. 23-36, 1990.

STUCHI, E. S.; ESPINOZA- NÚÑEZ, E.; MOURÃO FILHO, F. A. A.; ORTEGA, E. M. M. Vigor, produtividade e qualidade de frutos de quatro tangerineiras e híbridos sobre quatro porta-enxertos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 3, p. 741-747, 2008.

SULZBACH, M.; OLIVEIRA, R. P.; GIRARDI, E. A.; SCHWARZ, S. F.; BERTOLINI, E.; SCHNEIDER, L. A.; GONZATTO, M. P. **Huanglongbing (HLB) dos citros e estratégias de manejo visando prevenção e controle**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2017. 36 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 450).

TEIXEIRA, D. C.; AYRES, A. J.; KITAJIMA, E. W.; TANAKA, F. A. O.; DANET, J. L.; JAGOUEIX-EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J. M. First report of a huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo State, Brazil, and association of a new liberibacter species, *Candidatus Liberibacter americanus*, with the disease. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, n. 1, p. 107, 2005.

THALMANN, M.; PAZMINO, D.; SEUNG, D.; HORRER, D.; NIGRO, A.; MEIER, T.; KÖLLING, K.; PFEIFHOFER, H. W.; ZEEMAN, S. C.; SANTELIA, D. Regulation of leaf starch degradation by abscisic acid is important for osmotic stress tolerance in plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 28, p. 1860-1878, 2016.

TICHOPAD, A.; DILGER, M.; SCHWARZ, G.; PFALFFL, M. W. Standardised determination of real time PCR efficiency from a single reaction setup. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 31, n. 21, p. 122, 2003.

USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Foreign Agricultural Service. **Citrus: World markets and trade**. Nov. 2019. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/citrus-world-markets-and-trade>>. Acesso em: 10 maio 2021.

VAN DE MERWE, A. J.; ANDERSON, F. G. Chromium and manganese toxicity: Is it important in transvaal citrus greening? **Farming in South Africa**, Pretoria, v. 12, p. 439-440, 1937.

VIDAL, M. F. Citricultura na área de atuação do BNB. **Caderno Setorial ETENE**, ano 4, nº 107, Dezembro 2019. Disponível em: <[https://www.bnb.gov.br/documents/80223/6144766/107\\_Citricultura2.pdf/46d9d491-f139-5ae2-8bde-c87ebffa8e2b#:~:text=A%20laranja%20%C3%A9%20a%20principal,de%20laranja%20\(Tabela%201\)>](https://www.bnb.gov.br/documents/80223/6144766/107_Citricultura2.pdf/46d9d491-f139-5ae2-8bde-c87ebffa8e2b#:~:text=A%20laranja%20%C3%A9%20a%20principal,de%20laranja%20(Tabela%201)>)>. Acesso em: 16 abr. 2021.

VIOLA, R.; DAVIES, H. V. A microplate reader assay for rapid enzymatic quantification of sugars in potato tubers. **Potato Research**, Wageningen, v. 35, p. 55-58, 1992.

VU, J. C. V.; YELENOSKY, G. Non-structural carbohydrate concentrations in leaves of "Valencia" orange subjected to water deficits. **Environmental and Experimental Botany**, v. 29, p. 149-154, 1989.

WEISE, S. E.; WEBER, A.; SHARKEY, T. D. Maltose is the major form of carbon exported from the chloroplast at night. **Planta**, v. 218, p. 474-482, 2004.

WUTSCHER, H. K. Porta-enxertos de citros na Flórida. *In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE CITROS: PORTA-ENXERTOS*, 1990, Bebedouro. **Anais** [...] Jaboticabal: Fundação de Apoio a Pesquisa, Ensino e Extensão - Funep, 1990. p. 11-19.

XU, C. F.; XIA, Y. H.; LI, K. B.; KE, C. Further study of the transmission of citrus huanglongbing by a psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama. *In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS*, 10., 1988, Riverside. **Proceedings** [...] Riverside, 1988. p. 243-248.

YAMAMOTO, P. T.; ALVES, G. R.; BELOTI, V. H. Manejo e controle do huanglongbing (HLB) dos cítricos. **Investigación Agraria**, San Lorenzo, v. 16, n. 2, p. 69-82, 2014.

ZEEMAN, S. C.; SMITH, S. M.; SMITH, A. M. The breakdown of starch in leaves. **New Phytologist**, Cambridge, v. 163, p. 247-261, 2004.