



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Curso de Engenharia Agrônoma



**JÚLIO CESAR SAMMARCO RONQUIM**

**Qualidade físico-química e tolerância à *Phyllosticta citricarpa*,  
*Elsinoe fawcettii* e “*Candidatus Liberibacter* spp.” em genótipos de  
limão (*Citrus limon*)**

**Araras**

**2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Curso de Engenharia Agrônoma



**JÚLIO CESAR SAMMARCO RONQUIM**

**Qualidade físico-química e tolerância à *Phyllosticta citricarpa*,  
*Elsinoe fawcettii* e “*Candidatus Liberibacter spp.*” em genótipos de  
limão (*Citrus limon*)**

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

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Patrícia Marluci da Conceição

**Araras**

**2022**

Dedico todos que me apoiaram durante a graduação e à memória de minha avó  
Conceição de Cápua Ronquim (1940 – 2021).

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus.

Agradeço aos meus pais por me incentivarem a estudar, a ingressar em uma graduação e me proporcionarem tudo que está ao alcance deles para que eu atinja meus objetivos.

Agradeço aos meus familiares que sempre me apoiaram, em especial a minha avó Conceição de Cápua Ronquim, sempre interessada no meu progresso durante a graduação e que, infelizmente, a notícia de seu falecimento foi me informada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de São Carlos, docentes e toda a equipe que a mantém, por oferecer um curso de alto nível e que me possibilitará ingressar no mercado de trabalho.

Agradeço ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira (CCSM), vinculado ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) pela estrutura e competência de seus funcionários.

Agradeço ao Dr. Fernando de Azevedo e Dra. Marinês Bastianel, pesquisadores do CCSM, que me possibilitaram o ingresso como estagiário no CCSM, a bolsa de iniciação científica e compartilhar o conhecimento para a realização deste trabalho.

Agradeço a minha orientadora Dra. Patrícia Marlucci da Conceição, orientadora deste trabalho, por me motivar a entregar a melhor versão.

Agradeço ao doutorando Rodrigo Ferreira, pelo suporte durante toda a realização deste trabalho.

Agradeço a República Invernada, onde pude crescer pessoalmente, convivendo com diversos moradores que me ensinaram a lidar com a individualidade de cada ser humano, além de ter me proporcionado diversos momentos incríveis que jamais serão esquecidos.

**Estabilidade não existe.**

*Flávio Augusto da Silva (Geração de Valor)*

## Resumo

Os genótipos de limão são acometidos por diversas doenças que põem em risco sua sustentabilidade produtiva. Com este estudo objetivou-se avaliar a qualidade físico-química de frutos e a incidência e severidade das doenças mancha preta dos citros (*Phyllosticta citricarpa*), Verrugose (*Elsinoe fawcettii*) e HLB (“*Candidatus Liberibacter* spp.”) em três genótipos de limão. O trabalho foi conduzido nas plantas e frutos colhidos da Coleção de Trabalho de Citros do Centro de Citricultura ‘Sylvio Moreira’, estabelecida em 2015/2016. Neste trabalho avaliou-se a qualidade físico-química de frutos (massa, altura e largura dos frutos, rendimento de suco, teor de Vitamina C e rendimento de óleos essenciais) e a incidência e severidade das doenças em três genótipos principais de limão: Eureka IAC 644, Femminello Sta T-2 IAC 272, Lisboa IAC 267. Os dados das avaliações foram submetidos à análise de variância e as médias das análises comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. A massa e altura dos frutos dos três genótipos com sintomas HLB foi menor em relação aos frutos assintomáticos. Na avaliação de rendimento de suco os sintomas da mancha preta e HLB diminuíram o rendimento de suco de alguns genótipos: Eureka IAC 644 (MPC), Femminello Sta T.-2 IAC 272 (MPC), Lisboa IAC 267 (HLB) e Femminello Sta T.-2 IAC 272 (HLB). O suco de frutos com sintomas de HLB do genótipo Eureka IAC 644 teve menor teor de vitamina C comparado a esse genótipo assintomático. O rendimento de óleo essencial foi menor quando os genótipos apresentavam sintomas HLB, em relação aos genótipos assintomáticos. Os genótipos Femminello Sta Tereza IAC 272 e Eureka IAC 644 apresentaram maior incidência de MPC do que o genótipo Lisboa IAC 267. A severidade da mancha preta no genótipo Femminello Sta Tereza IAC 272 foi superior aos genótipos Eureka IAC 644 e Lisboa 267. Não houve diferença na incidência e severidade de verrugose entre os três genótipos. Dos genótipos avaliados, Eureka IAC 644 e Femminello Sta Tereza IAC 272 apresentaram maior severidade de HLB em relação ao genótipo Lisboa IAC 267. Conclui-se que os frutos dos genótipos Eureka IAC 644, Lisboa IAC 267 e Femminello Sta Tereza IAC 272 com sintomas de HLB tem menor massa, altura, rendimento de suco e rendimento de óleo em relação aos genótipos assintomáticos. O genótipo Lisboa IAC 267 apresenta maior tolerância ao HLB comparado aos demais genótipos.

**Palavras-chave:** mancha preta dos citros, verrugose, HLB, genótipos tolerantes.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** A) Cascas de limão. B) Destilador a vapor. C) óleo extraído e recolhido na seringa. ....200
- Figura 2.** A) escala diagramática de severidade com níveis variando de 1,2 a 68% de acordo com a % da área lesionada, proposta por SPÓSITO et al (2004). B) Fruto com mancha preta dos citros. Nível 31 de acordo com a escala diagramática de severidade proposta por SPÓSITO et al (2004). ....211
- Figura 3.** A) Escala diagramática de severidade da verrugose proposta por AZEVEDO (1998), que vai de 1 a 6 pontos (sendo 1 = até 1% e 6= 81 a 100%). B) Fruto com verrugose. Nível 4, de acordo com a escala diagramática de severidade, proposta por AZEVEDO (1998). ....222
- Figura 4.** Plantas com baixa (A) e alta (B) severidade de HLB. ....222

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Massa, altura e largura de frutos assintomáticos e frutos com sintomas de MPC, verrugose e HLB, de três genótipos. ....25
- Tabela 2.** Rendimento de suco, vitamina C e rendimento de óleo de frutos assintomáticos e frutos com sintomas de MPC, verrugose e HLB, de três genótipos. ....25
- Tabela 3.** Incidência e severidade da mancha preta dos citros (valores referentes a área abaixo da curva de progresso da doença). ....27
- Tabela 4.** Incidência severidade de verrugose - valores referentes a área abaixo da curva de progresso da doença. ....288
- Tabela 5.** Severidade de huanglongbing - valores referentes a área abaixo da curva de progresso da doença. ....28

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                             | 10 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                  | 12 |
| 2.1. Limão ( <i>Citrus limon</i> ) .....        | 12 |
| 2.2. Mancha Preta dos Citros (MPC) .....        | 12 |
| 2.3. Verrugose .....                            | 13 |
| 2.4. HLB .....                                  | 15 |
| 2.5. Óleos essenciais de limão .....            | 16 |
| 3. OBJETIVOS .....                              | 18 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS .....                     | 19 |
| 4.1. Qualidade físico-química de frutos .....   | 19 |
| 4.1.1. Massa .....                              | 19 |
| 4.1.2. Altura e largura dos frutos .....        | 19 |
| 4.1.3. Rendimento de suco .....                 | 19 |
| 4.1.4. Teor de Vitamina C .....                 | 20 |
| 4.1.5. Rendimento de óleos essenciais .....     | 20 |
| 4.2. Avaliação da incidência e severidade ..... | 20 |
| 4.3. Análise dos dados .....                    | 22 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                 | 23 |
| 5.1. Qualidade físico-química de frutos .....   | 23 |
| 5.2. Avaliação da incidência e severidade ..... | 27 |
| 6. CONCLUSÃO .....                              | 29 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....             | 30 |

## 1. INTRODUÇÃO

O limão (*Citrus limon*) (L.) Burm. f. produzido no Brasil é consumido no mercado interno brasileiro para indústria de refrigerante e uma pequena parte para o consumo *in natura* (Amaro e Maia, 1997). A produção mundial de limas e limões é estimada em 21 milhões de toneladas em 1,3 milhão de ha, sendo a Índia, México, China, Argentina e Bangladesh os principais produtores. (FAO, 2021). No Brasil a produção é de aproximadamente 1,1 milhão de toneladas, sendo a maior parte limão Tahiti com 86,184 toneladas, com uma área de 43,4 mil ha, destinada para industrialização e mercado de fruta fresca, mas o interesse dos produtores pelo mercado de frutas frescas para o limão verdadeiro, vem aumentando e apresentando um grande potencial, visto que o consumo ainda é pequeno (FAO, 2018). Além disso, os frutos não destinados ao consumo de frutas frescas, são encaminhados para indústria onde serão produzidos sucos e/ou óleos essenciais, estes que possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos (SILVA-SANTOS et. al., 2006; BAGETTA et al., 2010).

Os óleos essenciais podem ser extraídos através da técnica de arraste a vapor, no caso dos citros, pela prensagem do pericarpo. Este subproduto contribui para que o Brasil seja um dos maiores produtores de óleos essenciais ao lado de Índia, China e Indonésia (BIZZO e REZENDE, 2009). Os principais genótipos de limões cultivados são: a) Eureka: é a cultivar mais plantado do Brasil e Estados Unidos; b) Femminello: o mais cultivado na Europa, c) Lisboa: bastante cultivado na Argentina e Estados Unidos, muito produtivo, resistente ao frio e apresenta a casca rugosa em relação ao Eureka; d) Genova: é de origem italiana, com as qualidades químicas muito semelhante ao Eureka (Pio et al., 2005; Ferreira et al., 2018).

Esses genótipos de limão são acometidos de diversas doenças que põem em risco sua sustentabilidade produtiva (HARDY, 2004). Algumas das mais importantes são a mancha preta dos citros (MPC), a verrugose e o *huanglongbing* (HLB). A MPC é causada pelo fungo *Phyllosticta citricarpa* (teleomorfo: *Guignardia citricarpa*). Os sintomas são pequenas manchas arredondadas e escuras que podem aparecer em folhas, ramos e principalmente frutos, causando depreciação da casca do fruto e queda prematura deste (SILVA JUNIOR et al., 2016).

A verrugose é uma das principais doenças que deprecia frutos no mundo. Existem dois tipos de verrugose: da laranja doce, causada pelo fungo *Elsinoe australis*

(teleomorfo: *Sphaceloma australis*) e da laranja azeda causada pelo fungo *Elsinoe fawcettii* (teleomorfo: *Sphaceloma fawcettii*), o limão é afetado pelo segundo tipo. Essa doença causa hiperplasia dos tecidos foliares, em ambas as faces da lâmina foliar, e ramos novos. Nos frutos as lesões são superficiais não penetrando em seu interior (ROSSETTI, 2001).

O HLB tem como agente causal as bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *C. Liberibacter americanus* e *C. Liberibacter africanus*. Também o fitoplasma pertencente ao grupo 16 SrDNA-IX foi associado a sintomas ligados ao HLB (Teixeira *et al.*, 2008). As folhas com sintomas apresentam manchas irregulares, verde claras ou amareladas, em contraste com o verde normal de folhas saudáveis. Frutos presentes em ramos sintomáticos podem apresentar-se irregulares (tortos), de menor tamanho, com sementes deformadas, não atingindo a maturação plena e coloração laranja da casca e ainda albedo espesso. A qualidade dos frutos formados em plantas doentes também é prejudicada em razão do aumento na acidez e redução no teor de sólidos solúveis. Afeta sobremaneira a produtividade e longevidade dos pomares (LARANJEIRA *et al.*, 2005).

Com a observação do crescente interesse por parte dos produtores pelo cultivo de limões, é relevante a avaliação de novos cultivares que apresentem melhor desempenho horticultural e resistência/tolerância a problemas fitossanitários (FERREIRA, 2019).

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Limão [*Citrus limon* (L.) Burm. f.]

A origem do limão é incerta, porém acredita-se que seja a Índia. Teve sua entrada no continente americano no século XV com as grandes navegações (PIO *et al.*, 2005). A planta do limão possui hábito de crescimento ereto, tendo suas folhas de formato oval e cor verde clara, possui espinhos em seus ramos e flores de cor roxo purpúreo (FERREIRA *et al.*, 2018). O limão quando maduro possui a cor amarela, este tem aceitação menor no mercado se comparado a lima ácida tahiti [*Citrus latifolia* (Yu. Tanaka)] e galego [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] (FIGUEIREDO *et al.*, 2005).

O suco extraído do limão possui acidez moderada, podendo ser utilizado para fabricar refrigerantes, bolos, doces e bebidas alcoólicas. Contém grande quantidade de vitamina C e potássio, considerado benéfico a saúde humana, atuando contra o colesterol alto, hipertensão e age como diurético. O ácido cítrico presente em seu suco é utilizado como acidulante para fabricar queijos e geleias, antioxidantes como conservantes e serve como agente no processo de branqueamento de semiprocessados (SILVA, 2008).

### 2.2. Mancha Preta dos Citros (MPC)

A MPC, também denominada como pinta preta dos citros é uma doença fúngica causada por *Phyllosticta citricarpa*. Apresenta como sintomas principais lesões na casca dos frutos, porém sem afetar a qualidade interna destes (NASCIMENTO, 2017).

A MPC foi relatada pela primeira vez em 1895, causando prejuízos em pomares na Austrália (ROBBS e BITTENCOURT, 1995). Sua presença no Brasil foi notificada pela primeira vez por Sacca (1940). De acordo com a descrição de Sacca (1940), ainda em 1937 apareceram lotes de laranja doce em um mercado municipal de Piracicaba apresentando sintomas de uma doença aparentemente nova, que se manifestava nos frutos a partir de pústulas pretas e rígidas.

Existem quatro diferentes tipos de lesões que podem ocorrer como consequência da manifestação dos sintomas da doença: manchas sardentas, que, em geral, aparecem quando a coloração do fruto passa de verde para alaranjada ou amarelada; manchas duras, que geralmente aparecem no início da maturação dos frutos; manchas virulentas, que, em geral, se desenvolvem sob condições de temperatura mais elevada, ao final da safra, e também podem ocorrer durante o

transporte e armazenamento, após a colheita dos frutos; mancha de falsa melanose, as quais se assemelham às lesões causadas por melanose e, normalmente, ocorrem após o período de maior suscetibilidade do fruto à doença (que é entre quatro a cinco meses após a queda de pétalas) (FEICHTENBERGER *et al.*, 1997).

A doença afeta tangerinas, limões, limas, laranjas doces, além de outros híbridos, causando a queda prematura dos frutos, o que acarreta na impossibilidade de processamento destes, e prejudicando a comercialização dos frutos para consumo *in natura*, devido à presença das lesões na casca, podendo também resultar em barreiras sanitárias às exportações (MORAES, 2017).

O patógeno, cuja disseminação dos esporos (denominados ascósporos) se dá pelo vento e por respingos de água. O patógeno pode manter-se em repouso por um longo período na planta sem que haja a manifestação de sintomas, os quais passam a ocorrer quando as condições ambientais se tornam favoráveis, sendo o desenvolvimento da doença propiciado por períodos alternados de alta umidade e de seca, bem como por altas temperaturas e maior radiação solar (MAPA, 2003).

Como principais medidas de controle da doença têm-se: utilização de fungicidas de ação sistêmica, como benzimidazóis; fungicidas de contato, à base de cobre, de modo a proteger os frutos durante o período de maior suscetibilidade à doença; manejo nutricional e sanitário do pomar; plantio de mudas comprovadamente sadias em áreas sem a presença do patógeno; redução da fonte do inóculo por meio do manejo de plantas daninhas na entrelinha de plantio, de modo a proporcionar a manutenção de cobertura morta sobre as folhas caídas no solo contendo os esporos do fungo, e por meio da eliminação de frutos temporões com a presença do patógeno (FEICHTENBERGER *et al.*, 1997). Entretanto, visando a produção para exportações fungicidas como benzimidazóis são proibidos na Europa, como alternativa pode-se utilizar produtos antiesporulantes antes da florada, como as estrobilurinas e também os triazois (FUNDECITRUS, 2015).

### **2.3. Verrugose**

A verrugose dos citros é uma importante doença fúngica, podendo ser causada por diferentes espécies: *Elsinoe fawcetti* (*Sphaceloma fawcetti*), que ocasiona a doença na laranja azeda, em limões, em pomelos, em limão Cravo e em outros genótipos cítricos; *Sphaceloma fawcetti* var. *scabiosa*, que ocasiona a doença em

tangerinas; e *Elsinoe australis* (*Sphaceloma australis*), que ocasiona a doença em laranjas doces (AZEVEDO, 2003; FUNDECITRUS, 2015).

A produção de conídios do fungo se dá sob condições de umidade elevada, podendo a disseminação ser feita pelo vento, pela água e por outras formas (pelo homem, por insetos e etc.) e, em condições menos favoráveis, como períodos secos, os conídios que se formam nas lesões têm sobrevivência curta, porém o fungo apresenta capacidade de sobrevivência por períodos mais longos e as lesões podem tornar a esporular quando as condições de umidade se tornam novamente favoráveis (FEICHTENBERGER *et al.*, 1997).

Ainda de acordo com esses autores, os sintomas da verrugose podem se manifestar nos ramos novos e nas folhas, inicialmente como manchas pequenas e de aparência encharcada, tornando-se lesões salientes, irregulares e de coloração marrom. Nos frutos as lesões podem se aglutinar passando a tomar grandes áreas da casca, manifestando-se, no entanto, de forma superficial e sem se aprofundar no interior dos tecidos dos frutos.

Conforme destacado por Souza (2009), a verrugose dos citros está disseminada em todas as regiões produtoras de citros do Brasil, causando prejuízos de ordem econômica e dificultando a comercialização de frutos para consumo *in natura*. Além de prejuízos ao comércio nacional de fruta fresca, a verrugose ocasiona impactos na exportação de frutos, especialmente para o continente europeu (FUNDECITRUS, 2015).

Além dos danos provocados na casca dos frutos, as lesões causadas pelo fungo podem propiciar abrigo ao ácaro da leprose (*Brevipalpus phoenicis*) (MALAVOLTA *et al.*, 1994), o qual, segundo Andrade *et al.* (2008), é uma praga de grande importância para a citricultura, visto que atua como vetor do vírus da leprose.

O controle da doença deve ser preventivo e é feito, principalmente, com o emprego de fungicidas cúpricos alternados com o uso do fungicida benomil e também deve ser feito por meio da retirada de restos culturais de viveiros, uma vez que estes podem servir de fonte de inóculo (GASPAROTTO, 1998). Segundo Siddiquee (2012), além dos cúpricos, a pulverização de fungicidas contendo mancozebe ou dicarboximida também tem sido efetiva no do controle da doença. Somente no caso do controle de *E. fawcetti* são recomendadas pulverizações antes da florada com produtos antiesporulantes, como as estrobilurinas e também os triazóis e os benzimidazóis (FUNDECITRUS, 2015). Quando é feito o emprego de irrigação por

aspersão no pomar, as pulverizações devem ser mais frequentes, uma vez que nessas condições os níveis de infecção pelo patógeno são mais elevados (FEICHTENBERGER *et al.*, 1997).

## 2.4. HLB

O *huanglongbing* (HLB) é uma doença bacteriana causada pela *Candidatus Liberibacter*, tendo três espécies associadas *C. Liberibacter asiaticus* (CLas), *C. Liberibacter africanus* (CLaf) e *C. Liberibacter americanus* (CLam) (BELASQUE *et al.*, 2009). Em 2004 surgiram os primeiros sintomas de HLB no continente americano, foram observados no Brasil, na região de Araraquara, SP. Durante os anos seguintes, a doença se espalhou rapidamente por todo o estado, onde em 2009, 24% dos pomares citrícolas de SP possuíam pelo menos uma planta sintomática e 0,9% de plantas doentes (aproximadamente 1,9 mi de plantas). A CLam é exclusiva do Brasil, a CLas, a mais disseminada nas américas, devido a sua capacidade de concentrar maior quantidade de bactérias nas plantas hospedeiras beneficiando a disseminação pelo vetor e a CLaf, está presente em diversos países do continente Africano e Arábia Saudita (LOPES *et al.*, 2009).

A doença pode ser transmitida por tecidos infectados durante a enxertia de mudas, porém o mais comum é a transmissão pelo inseto vetor, o psílideo (*Diaphorina citri*) (BASSANEZI *et al.*, 2010). Este inseto, possui uma gama de hospedeiros, incluindo todas as espécies citrícolas, espécies ornamentais rutáceas e outras não necessariamente espécies citrícolas, movimentando-se por voos curtos ou carregado por massas de ar por longas distâncias. Uma vez adquirida a bactéria, a transmissão ocorre durante todo o ciclo do inseto (BOVÉ, 2006).

Os sintomas do HLB incluem a presença de ramos com folhas mosqueadas, de forma assimétrica e de coloração amarela, além disso, em casos onde a doença está avançada, apresenta deformação e queda prematura dos frutos, desfolha e morte do ponteiro (SILVA; PEREIRA e ROCHA, 2020; BELASQUE *et al.*, 2009). É necessário que se faça a inspeção visual das plantas do pomar, buscando a presença de plantas sintomáticas, Yamamoto *et al.* (2015) afirmam que, quando se encontra  $n$  plantas sintomáticas, assume-se o dobro da quantidade, isto é,  $2n$  de plantas com a doença.

Para o controle do HLB faz-se necessário a utilização de plantas sadias para o plantio, isto é, seguindo rigorosamente as recomendações de produção de mudas

sadias; a erradicação de plantas infectadas; e controle do inseto vetor (BOVÉ, 2006). O grande impasse no controle está relacionado a rápida disseminação da doença, ao período extenso de incubação do agente causador, ocorrência em espécies não cítricas e plantas assintomáticas. Dessa forma, o manejo do HLB necessita tecnologia, mão de obra e maior número de aplicação de inseticidas sistêmicos, aumentando o custo de produção do pomar. Sendo assim, há uma demanda por genótipos tolerantes ou resistentes à doença (YAMAMOTO, 2015).

## **2.5. Óleos essenciais de limão**

Os óleos essenciais são compostos por terpenos, álcoois, acetonas, aldeídos e ésteres (SOUZA, 2013). Trata-se de líquidos que estão presentes em todos órgãos da planta, como flores, folhas, sementes e frutos. A função natural dos óleos essenciais é a proteção contra organismos externos e atração de polinizadores (BAKALLI *et al.*, 2008).

São várias as culturas as quais são extraídos óleos essenciais, como por exemplo, menta, eucalipto, citronela, hortelã, laranja e limão. O Brasil é um grande produtor de óleos essenciais, devido a indústria de suco que tem como subproduto os óleos essenciais cítricos (BIZO; HOVELL; RESENDE, 2009). Através de métodos como hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, extração por fluido supercrítico e prensagem a frio são extraídos os óleos essenciais (ALMEIDA *et al.*, 2020).

Segundo Teixeira, Marques e Figueiredo (2013), d-limoneno, b-pineno, g-terpineno e a-pineno são os principais hidrocarbonetos presentes nos óleos essenciais de limão, sendo o primeiro, principal componente, recuperado aproximadamente 50 mil toneladas por ano como subproduto da indústria mundial. O Brasil produziu aproximadamente 1,5 milhões de toneladas de limão (FAO, 2019), isto equivale ao um potencial de 11 mil toneladas de óleo essencial, se considerar que, como apresentado por Bizo, Hovell e Resende (2009); Van der Merwe (2005), o rendimento médio de extração de óleos oriundos do limão é de 0,4 a 0,75% do peso total do fruto.

Os óleos essenciais de limão estão presentes na indústria cosmética, perfumaria, alimentos e como coadjuvantes em medicamento, sendo empregados como aromas, fragrâncias, fixadores em composições farmacêuticas, sendo também encontrado no mercado de forma bruta ou beneficiado (ALMEIDA *et al.*, 2020). O óleo

essencial terpenado é utilizado como solvente de tintas, compõe resinas, detergente e aditivos para combustíveis, já o desterpenado, como estabilizante para suspensões de produtos alimentícios e, o destilado, para empregar o odor do limão a vários produtos industriais (ALMEIDA, 2020; BIZO *et al.*, 2009).

### 3. OBJETIVOS

Avaliar a qualidade físico-química de frutos e a incidência e severidade das doenças mancha preta dos citros (*Phyllosticta citricarpa*), Verrugose (*Elsinoe fawcettii*) e HLB (*Candidatus Liberibacter* spp.) em três genótipos de limão.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido nas plantas e frutos colhidos da Coleção de Trabalho de Citros do Centro de Citricultura 'Sylvio Moreira', estabelecida em 2015/2016. O grupo de limões, com 36 genótipos, foi plantado em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Neste trabalho avaliou-se a qualidade físico-química de frutos e a incidência e severidade da MPC, Verrugose e HLB em três genótipos principais de limão: Eureka IAC 644, Feminello Sta Tereza IAC 272 e Lisboa IAC 267.

### **4.1. Qualidade físico-química de frutos**

Para análise de qualidade foram colhidos 10 frutos na porção externa da copa, na faixa compreendida entre 1 e 2 m de altura do solo e em toda a extensão do perímetro da planta (três repetições), durante o período final de maturação, caracterizado pelo aspecto externo do fruto (tamanho e cor da casca), que ocorre entre seis e nove meses após a floração, esta que se dá no final do inverno ou início da primavera. Foram colhidos também frutos assintomáticos e frutos com sintomas de MPC, verrugose e HLB, por genótipo. As análises foram conduzidas no Laboratório de Melhoramento Genético e no Laboratório de Qualidade e Pós-Colheita, ambos localizados no Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC, Cordeirópolis, SP, onde foram avaliados:

#### **4.1.1. Massa**

A massa dos frutos foi determinada através da pesagem dos mesmos em balança digital, com capacidade máxima para 15 quilos, obtendo-se o valor total da amostra e posteriormente, a massa de cada fruto.

#### **4.1.2. Altura e largura dos frutos**

A leitura da altura e largura, de cada amostra, foi realizada com auxílio de uma escala graduada, em centímetros.

#### **4.1.3. Rendimento de suco**

O rendimento de suco foi determinado após esmagamento do fruto na extratora Organização Internacional Centenário (OIC) modelo OTTO 1800 (filtro com diâmetro interno = 26,11mm; comprimento = 265mm; furos de diâmetro = 0,6 mm; área de

vazão = 20%) e calculado através da relação massa do suco/massa do fruto e expresso em porcentagem (%).

#### 4.1.4. Teor de Vitamina C

Determinada pela titulação de 50 ml de suco, seguindo a metodologia de CHEN (1995).

#### 4.1.5. Rendimento de óleos essenciais

Para avaliar o rendimento do óleo realizou-se a coleta de 3 amostras de 20 frutos assintomáticos, 3 amostras de 20 frutos que apresentaram sintomas de MPC, verrugose e HLB, por genótipo. Foram pesados os 20 frutos inteiros, depois foram descascados. As cascas juntamente ao albedo foram picadas em pedaços de aproximadamente 1 cm e pesadas. Por fim, houve a extração de óleos essenciais de cada amostra, de aproximadamente 500 g de casca, utilizando um aparelho tipo Clevenger (Figura 4), por um período de 2 horas (TEIXEIRA *et al.*, 2013).



**Figura 1.** A) Cascas de limão. B) Destilador a vapor. C) óleo extraído e recolhido na seringa.

#### 4.2. Avaliação da incidência e severidade

A incidência da MPC foi avaliada pela presença ou não de qualquer um dos sintomas da doença na inspeção de 10 frutos por genótipo dos 4 tratamentos, calculando-se posteriormente a porcentagem de incidência. Para a avaliação da severidade, com a mesma amostra utilizou-se a escala diagramática (Figura 2) com níveis variando de 1,2 a 68%, proposta por SPÓSITO *et al* (2004).

Para Verrugose a incidência foi avaliada da mesma forma mencionada para a MPC. A severidade da Verrugose (Figura 3) também seguiu a mesma metodologia da MPC, através de escala proposta por AZEVEDO (1998), que vai de 1 a 6 pontos (sendo 1 = até 1% e 6= 81 a 100%). Foram realizadas 4 avaliações para MPC e Verrugose, sendo a primeira com os frutos no estágio de bola de ping-pong, e a última próximo a colheita.

Para o HLB, a incidência é considerada 100%, as plantas foram inspecionadas visualmente em todo seu redor e determinado a porcentagem da copa que apresentava folhas com sintomas da doença. Para cada planta foi atribuído um percentual que varia de 0 a 100% (Figura 4), sendo assim, 0=ausência de folhas sintomáticas e 100%= ausência de folhas sadias. O percentual de severidade considerado foi de 10% em 10% (Adaptado de GOTTWALD *et al.*, 2015).



**Figura 2.** A) escala diagramática de severidade com níveis variando de 1,2 a 68% de acordo com a % da área lesionada, proposta por SPÓSITO *et al* (2004). B) Fruto com mancha preta dos citros. Nível 31 de acordo com a escala diagramática de severidade proposta por SPÓSITO *et al* (2004).



**Figura 3.** A) Escala diagramática de severidade da verrugose proposta por AZEVEDO (1998), que vai de 1 a 6 pontos (sendo 1 = até 1% e 6= 81 a 100%). B) Fruto com verrugose. Nível 4, de acordo com a escala diagramática de severidade, proposta por AZEVEDO (1998).



**Figura 4.** Plantas com baixa (A) e alta (B) severidade de HLB.

#### 4.3. Análise dos dados

Foram avaliados o progresso das doenças através do cálculo da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), esta que representa melhor a epidemia, sendo visualizada através da plotagem de dados de Tempo (dias) no eixo X e de Severidade (%) no eixo Y, possibilitando a interpretação do efeito ocorrido entre a interação do patógeno, ambiente e hospedeiro (Gomes *et al.*, 2004). Os dados das avaliações foram submetidos à análise de variância; as médias das análises foram comparadas pelo teste de Scott-knott a 5 % de probabilidade.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Qualidade físico-química de frutos

A massa e altura dos frutos foi menor em dois genótipos com sintomas de verrugose e todos os genótipos com sintomas HLB: Eureka IAC 644 (Verrugose), Femminello Sta T.-2 IAC 272 (Verrugose), Eureka IAC 644 (HLB), Lisboa IAC 267 (HLB) e Femminello Sta T.-2 IAC 272 (HLB) (Tabela 1). Segundo Bové (2006), os frutos que apresentam sintomas de HLB, além de apresentarem tamanho reduzido, também ficam assimétricos e incompletamente maduros, prejudicando sua massa. Os sintomas de MPC não diminuíram a massa, altura e largura dos frutos dos genótipos Lisboa IAC 267 e Femminello Sta T.-2 IAC 272 em relação aos frutos assintomáticos desses genótipos (Tabela 1).

Na avaliação de rendimento de suco os sintomas da mancha preta e HLB diminuíram o rendimento de suco de alguns genótipos: Eureka IAC 644 (Mancha Preta), Femminello Sta T.-2 IAC 272 (Mancha Preta), Lisboa IAC 267 (HLB) e Femminello Sta T.-2 IAC 272 (HLB) (Tabela 2), no entanto todos os genótipos, independentes de estarem sintomáticos ou não, registraram valores adequados para rendimento de suco, visto que o recomendado seria o mínimo de 35% a 45% nas condições brasileiras, variando conforme o genótipo (Santos Filho *et al.*, 2005). Sharma *et al.* (2006) encontraram valores de 52,3% e 50,2% para os genótipos Eureka e Lisboa, respectivamente.

O teor de vitamina C no suco extraído de frutos assintomáticos dos genótipos Lisboa IAC 267 e Femminello Sta T.-2 IAC 272 foi inferior ao genótipo Eureka IAC 644 (Tabela 2). O suco de frutos com sintomas de HLB do genótipo Eureka IAC 644 teve menor teor de vitamina C comparado a esse genótipo assintomático (Tabela 2). O teor de vitamina C do genótipo Eureka IAC 644 com sintomas de mancha preta e verrugose não foi inferior a esse genótipo assintomático (Tabela 2), no entanto é importante ressaltar que essas doenças são conhecidas por causar lesões que afetam a qualidade visual dos frutos podendo dificultar sua comercialização. Todos os teores de vitamina C registrados nesse trabalho foram superiores ao encontrado por Yekeler *et al.* (2013) que avaliaram o limão Siciliano obtendo teores de vitamina C de 24,8 mg 100 mL<sup>-1</sup>.

O rendimento de óleo essencial foi menor em dois genótipos com sintomas de mancha preta e todos com sintomas de HLB: Eureka IAC 644 (Mancha Preta), Lisboa

IAC 267 (Mancha Preta), Eureka IAC 644 (HLB), Lisboa IAC 267 (HLB) e Femminello Sta T.-2 IAC 272 (HLB) (Tabela 2). Segundo PALOZOLLO *et al.* (2013) a quantidade e qualidade dos óleos essenciais depende de fatores como genótipo, combinação porta-enxerto, condições edafoclimáticas, época de colheita do fruto, adubação e o método de extração. Grassi *et al.* (2005) avaliando frutos de limão Siciliano e limão Eureka encontrou valores de 5,16 e 4,58 kg ton<sup>-1</sup>, respectivamente, sendo valores inferiores ao Lisboa IAC 267 e Femminello Sta T.-2 IAC 272 quando ambos genótipos estavam assintomáticos e quando eles apresentavam sintomas de verrugose (Tabela 2).

**Tabela 1.** Massa, altura e largura de frutos assintomáticos e frutos com sintomas de MPC, verrugose e HLB, de três genótipos.

| <b>Genótipos</b>                              | <b>Massa<br/>g</b> | <b>Altura<br/>cm</b> | <b>Largura<br/>cm</b> |
|---|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Eureka IAC 644                                | 131,40 a           | 6,76 a               | 6,26 a                |
| Lisboa IAC 267                                | 118,33 b           | 6,56 a               | 5,86 b                |
| Femminello Sta T.-2 IAC 272                   | 133,66 a           | 6,96 a               | 6,33 a                |
| Eureka IAC 644 (Mancha Preta)                 | 117,33 b           | 6,40 a               | 6,03 b                |
| Lisboa IAC 267 (Mancha Preta)                 | 173,00 a           | 7,33 a               | 6,86 a                |
| Femminello Sta T.-2 IAC 272<br>(Mancha Preta) | 140,66 a           | 6,90 a               | 6,36 a                |
| Eureka IAC 644 (Verrugose)                    | 107,33 c           | 6,16 b               | 5,83 b                |
| Lisboa IAC 267 (Verrugose)                    | 139,66 a           | 7,16 a               | 6,13 b                |
| Femminello Sta T.-2 IAC 272<br>(Verrugose)    | 105,66 c           | 6,43 b               | 5,90 b                |
| Eureka IAC 644 (HLB)                          | 100,20 c           | 6,12 b               | 5,80 b                |
| Lisboa IAC 267 (HLB)                          | 98,70 c            | 6,10 b               | 5,90 b                |
| Femminello Sta T.-2 IAC 272 (HLB)             | 101,32 c           | 6,07 b               | 5,78 b                |
| C.V. (%)                                      | 15,04              | 5,35                 | 4,91                  |

\*Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si (Scott-Knott - 5%). C.V. (%): coeficiente de variação.

**Tabela 2.** Rendimento de suco, vitamina C e rendimento de óleo de frutos assintomáticos e frutos com sintomas de MPC, verrugose e HLB, de três genótipos.

| Genótipos                                       | Rd. suco | Vit. C    | Rd. Óleo |
|---|----------|-----------|----------|
|   | % (m/m)  | mg/100 mL | kg/ton   |
| Eureka IAC 644                                  | 52,33 a  | 44,21 a   | 4,41 b   |
| Lisboa IAC 267                                  | 53,13 a  | 35,52 c   | 6,58 a   |
| Femminello Sta Tereza IAC 272                   | 50,06 b  | 35,58 c   | 6,40 a   |
| Eureka IAC 644 (Mancha Preta)                   | 42,96 c  | 42,46 a   | 3,40 c   |
| Lisboa IAC 267 (Mancha Preta)                   | 52,03 a  | 31,91 c   | 3,06 c   |
| Femminello Sta Tereza IAC 272<br>(Mancha Preta) | 48,60 c  | 34,70 c   | 4,83 b   |
| Eureka IAC 644 (Verrugose)                      | 49,73 b  | 46,10 a   | 4,75 b   |
| Lisboa IAC 267 (Verrugose)                      | 52,80 a  | 39,34 b   | 6,17 a   |
| Femminello Sta Tereza IAC 272<br>(Verrugose)    | 51,00 b  | 37,82 b   | 6,84 a   |
| Eureka IAC 644 (HLB)                            | 49,96 b  | 31,12 c   | 2,12 c   |
| Lisboa IAC 267 (HLB)                            | 47,40 c  | 35,00 c   | 3,00 c   |
| Femminello Sta Tereza IAC 272<br>(HLB)          | 46,70 c  | 34,67 c   | 3,64 c   |
| C.V. (%)  | 5,85     | 9,86      | 15,8     |

\*Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si (Scott-Knott - 5%). C.V. (%): coeficiente de variação.

## 5.2. Avaliação da incidência e severidade

Os genótipos Feminello Sta Tereza IAC 272 e Eureka IAC 644 apresentaram maior incidência de mancha preta do que o genótipo Lisboa IAC 267 (Tabela 3). A severidade da mancha preta do genótipo Feminello Sta Tereza IAC 272 foi superior aos genótipos Eureka IAC 644 e Lisboa 267, sendo este último, o material que apresentou menor severidade (Tabela 3). Os sintomas da mancha preta em níveis mais severos estão relacionados a diversos fatores como maior incidência de raios solares nos frutos mais expostos, estresse hídrico, desequilíbrio nutricional e fatores genéticos (FEICHTENBERGER *et al.*, 1997). A mancha preta causa lesões na casca dos frutos e deprecia o produto para o mercado *in natura*, além de reduzir a produtividade da planta, acarretando em maior dificuldade de comercialização de genótipos que apresentam maior suscetibilidade a doença. É importante ressaltar que na área de avaliação não foram realizadas pulverizações para controle da doença, ou seja, em um pomar onde são seguidas as recomendações de pulverização para controle da doença, há a possibilidade de obter menores valores de incidência e severidade de mancha preta.

**Tabela 3.** Incidência da mancha preta dos citros (valores referentes a área abaixo da curva de progresso da doença).

| Genótipos                       | Incidência de MPC<br>AAPCD | Severidade de MPC<br>AAPCD |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Feminello Sta Tereza IAC<br>272 | 3037,5 a                   | 768,08 a                   |
| Eureka IAC 644                  | 2475 a                     | 600,99 b                   |
| Lisboa IAC 267                  | 1800 b                     | 450,33 c                   |

\*Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si (Scott-Knott - 5%)

Não houve diferença na incidência e severidade de verrugose entre os três genótipos avaliados (Tabela 4). Dos genótipos avaliados, Eureka IAC 644 e Feminello Sta Tereza IAC 272 apresentaram maior severidade de HLB em relação ao genótipo Lisboa IAC 267 (Tabela 5). Segundo Machado *et al.* (2010), a menor severidade do HLB pode estar relacionada a ativação de mecanismo de defesa da planta, resultando em menor probabilidade de infecção, multiplicação mais lenta da bactéria e redução da concentração bacteriana, diminuindo os sintomas e atrasando o desenvolvimento da doença. O resultado do presente trabalho sugere maior tolerância do genótipo Lisboa IAC 267 na presença da bactéria quando comparado com os outros dois genótipos, abrindo espaço para estudos futuros para entender melhor quais os mecanismos de defesa são ativados quando a planta é afetada pela doença.

**Tabela 4.** Incidência de verrugose - valores referentes a área abaixo da curva de progresso da doença.

| <b>Genótipos</b>                | <b>Incidência de Verrugose AAPCD</b> | <b>Severidade de Verrugose AAPCD</b> |
|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Feminello Sta Tereza IAC<br>272 | 101,5 a                              | 2857,625 a                           |
| Eureka IAC 644                  | 102,75 a                             | 3853,688 a                           |
| Lisboa IAC 267                  | 110,62 a                             | 4471,875 a                           |

\*Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si (Scott - Knott – 5%).

**Tabela 5.** Severidade de *huanglongbing* - valores referentes a área abaixo da curva de progresso da doença.

| <b>Genótipos</b>             | <b>Severidade de HLB AAPCD</b> |
|------------------------------|--------------------------------|
| Feminello Sta Tereza IAC 272 | 66612,5 a                      |
| Eureka IAC 644               | 73547,5 a                      |
| Lisboa IAC 267               | 57031,25 b                     |

\* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si (Scott - Knott – 5%).

## 6. CONCLUSÃO

Frutos dos genótipos Eureka IAC 644, Lisboa IAC 267 e Femminello Sta Tereza IAC 272 com sintomas de HLB tem menor massa, altura, rendimento de suco e rendimento de óleo em relação aos genótipos assintomáticos. O genótipo Lisboa IAC 267 apresenta maior tolerância ao HLB comparado aos demais genótipos. O genótipo Feminello Sta Tereza IAC 272 apresentou menor severidade da MPC em relação aos outros dois.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, B. A. **Determinação do estágio ótimo de maturação a colheita do limão 'Siciliano', produzidos no estado do Ceará (Dissertação de mestrado)**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará. 2014

ALMEIDA, F. S. de Souza; SOUZA, L. S. **Análise da qualidade físico-química de frutos lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia Tanaka*) em combinação com diferentes portaenxerto em Capitão Poço - Pa**. Dissertação (Bacharel em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia, 2019.

AMARO, A. A., & MAIA, M. L. **Produção e comércio de laranja e suco no Brasil: Informações Econômicas**, v. 27(7), p. 11-27. 2008.

ANDRADE, D. J.; OLIVEIRA, C. A. L.; FALCONI, R. S.; PATTARO, F. C.; FERNANDES, E.J. **Efeito do déficit hídrico e da presença do vírus da Leprose dos citros na temperatura foliar e sua relação com a população de *Brevipalpus phoenicis* e a severidade da doença em plantas cítricas**. Laranja, Cordeirópolis. v. 29. n.1-2, p. 1-15. 2008.

AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: 1997.

BAGETTA, G.; MORRONE, L. A.; ROMBOLÀ, L.; AMANTEA, D.; RUSSO, R.; BERLIOCCHI.; BERLIOCCHI, L.; SAKURADA, S.; ROTIROTI, D.; CORASANITI, M. T. **Neuropharmacology of the essential oil of bergamot**. *Fitoterapia*, v. 81, n. 6, p. 453-61, 2010.

BAKALLI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. **Biological effects of essential oils: a review**. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, n. 02, 446-475, 2008.

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

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**. Química Nova, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BOVÉ, J. M. **Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus**. Journal of plant pathology, p. 7-37, 2006.

BOVÉ, J.M., TEIXEIRA, D.C., WULFF, N.A., EVEILLARD, S., SAILLARD, C., BASSANEZI, R.B., LOPES, S.A., YAMAMOTO, P.T., AYRES, A.J. **Several *Liberibacter* and *Phytoplasma* species are individually associated with HLB**. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing, Orlando, p.152-155, 2008.

CHEN, H. Z. **Determination of ascorbic acid in drinks using cyanide-selective electrode with the addition of iodine**. Huaxue Chuanganqi, 15(4), 295-297. 1995.

DE NEGRI, J. D., STUCHI, E. S., BLASCO, E. E. A. **Planejamento e implantação do pomar cítrico**. In D. Mattos Junior, J. D. Negri, R. M. Pio, & J. Pompeu Junior (Eds.), Citros. Campinas: Instituto Agrônômico, Fundag, (cap. 14, pp. 409-428). 2005.

FEICHTENBERGER, E.; MÜLLER, G. W.; GUIRADO, N. **Doenças dos citros**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CARMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M., ed. Manual de Fitopatologia. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. V2, p.257-296, 1997.

FERREIRA, R. V., BASTIANEL, M., AZEVEDO, F. A., & DE NEGRI, J. D. **Desenvolvimento vegetativo e características físico-químicas dos frutos de quatorze genótipos de limão**. *Citrus Research & Technology*, 39, e1037, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4322/crt.14818>. Acesso em 18 de nov de 2021.

FERREIRA, R. V., BASTIANEL, M., DE NEGRI, J. D., AZEVEDO, F. A. **Limão:** alternativa de cultivo na citricultura. *Citricultura Atual*, ano XXII 121:13-16. 2019.

FIGUEIREDO, J. O.; NEGRI, D. de N.; MATTOS JR, D.; PIO, R. M.; LARANJEIRA, F. F.; GARCIA, V. X. P. **Comportamento de catorze porta-enxertos para o limão eureka km 47 na região de Araraquara-SP.** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 27, n. 1, p. 73-76, 2005.

FEICHTENBERGER, E.; MÜLLER, G.W. & GUIRADO, N. Doenças dos citros. In: KIMATI, H., AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. & REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.261-296

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. **Faostat:** production. Disponível em <http://faostat.fao.org/>. Acesso em 16 de junho 2020. 2018.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. (FAO). **FAOSTAT:** Data of crops and livestock products, 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> . Acesso em: 05 set. 2021.

FUNDECITRUS. **Pragas e Doenças.** *Revista Citricultor*, Ano VII, n. 28, p.11-12. 2015. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/pdf/revistas/28.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2021.

GASPAROTTO, L.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEREIRE, J. C. R. **Doenças dos Citros no Estado do Amazonas.** EMBRAPA - Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental, Circular Técnica, 6. 20p, 1998. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/666582/1/circtec698.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2021.

GOMES, Andréa M.A.; MICHEREFF, Sami J.; MARINO, Rosa L.R. **Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface**. Summa Phytopathologica, v.30, n.1, p.38-42, 2004.

GOTTWALD, T. R., IREY, M., GAST, T., HILF, M. E. **Spatio-Temporal Analysis of an HLB Epidemic in Florida and Implications for Spread**. Proceedings of the 17 th Conference of International Organization of Citrus Virologists, IOCV, 2015.

HARDY, S. **Growing Lemons in Australia: a production manual**. pp. 237. NSW Department of Primary Industries, 2004. Disponível em <http://www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/horticulture/citrus/lemon-manual> Acesso em 10 de nov de 2021.

GRASSI, H. F., PENTEADO, B. B., SANTOS, C. H.; **Preparo de amostras e métodos para a determinação do teor de óleo essencial de frutos de limoeiro**. Revista Brasileira de Fruticultura [online]. v. 27, n. 1, 2005.

LARANJEIRA, F.F., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., AGUILAR-VILDOSO, C.I., COLETTA FILHO, H. D. **Fungos, procaríotos e doenças abióticas**. In: Mattos Junior, D., Negri, J.D., Pio, R.M., Pompeu Jr, J. (Ed.). Citros. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag. cap. 18, p. 509-566, 2005.

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

LUCENA, H. H.; ALMEIDA, E. I. B.; SIZENANDO FILHO, F. A.; RIBEIRO, W. S.; BARBOSA, J. A. **Uso de cera na conservação pós-colheita do limão verdadeiro (*Citrus x limon (L.) Burm. f.*)**. Revista Verde (Mossoró–RN), v. 7, n. 4, p. 170-174, 2012.

MACHADO, M. A.; FABRIS, E. C. L.; FILHO, H. D. C. **Candidatus Liberibacter spp., citrus Huanglongbing agents**. Citrus Research & Technology, v. 31, n. 1, p. 25-35, 2010.

MALAVOLTA, E.; PRATES, H. S.; CASALE, H.; LEÃO, H. C. **Seja o doutor dos seus citros**. Potafos, Piracicaba. Informações Agronômicas, n.65, 1994. 22 p.

MENDEL, K. **Rootstock-scion relationships in Shamouti trees on light soil**. Ktavim, Rehovot, v. 6, p. 35-60, 1956.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. **Agrofit**. Brasília, 2003. Disponível em: <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 24 set. 2021.

MORAES, R. B. **Diferentes concentrações de óleo mineral e resina orgânica em combinação com fungicidas no controle da pinta preta dos citros**. 2017. 56 f. Dissertação (Mestrado), Fundo de Defesa da Citricultura - Mestrado Profissional em Controle de Doenças e Pragas dos Citros, Araraquara, 2017. Disponível em: <<https://www.fundecitrus.com.br/pdf/projetos/MarioZRobertoZMoraes.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2021.

NASCIMENTO, F. V. **Alternativas para a redução de sintomas de mancha preta dos citros em tangerinas para consumo *in natura***. 102 f. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/181172/001073210.pdf?sequenc e=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 23 set. 2021.

PIO, R. M., FIGUEIREDO, J. O., STUCHI, E. S., & CARDOSO, S. A. B. **Variedades Copa**. In D. MATTOS JÚNIOR, J. D. NEGRI, R. M. PIO, & J. POMPEU JÚNIOR (Eds.), Citros. Campinas: Instituto Agronômico, Fundag, 2005. (cap. 3, pp. 37-60).

ROBBS, C.F. & BITTENCOURT, A.M. **A mancha preta dos frutos, um dos fatores limitantes à produção citrícola do Estado do Rio de Janeiro**. Comunicado Técnico (Embrapa), n.19, p.1-5, 1995.

ROSSETTI, V. V. **Manual ilustrado de doenças dos citros**: Piracicaba: FEALQ, 2001.

SACCA, R. A. **Pústulas pretas sobre laranjas doces produzidas por *Phoma citricarpa***. Revista de Agricultura, Piracicaba, v. 15, n.11-12, p.468-475, 1940. Disponível em: <[https://www.revistadeagricultura.org.br/index.php/revistadeagricultura/article/view/2173/pdf\\_1796](https://www.revistadeagricultura.org.br/index.php/revistadeagricultura/article/view/2173/pdf_1796)>. Acesso em: 24 set. 2021.

SANTOS FILHO, H. P., MAGALHÃES, A. F. J., & COELHO, Y. S. **Citros: o produtor pergunta, a Embrapa responde (219 pp.)**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas. 2005.

SHARMA, R. R., SINGH, R., & SAXENA, S. K. **Characteristics of citrus fruits in relation to granulation. Scientia Horticulturae**, v. 111(1), p. 91-96. 2006

SIDDIQUEE, T.; ISLAM, M.; AMINUZZAMAN, F.; FARUQ, A.; ISLAM, M. **Efficacy of Foliar Spray with Seven Fungicides and a Botanical to Control *Scab Elsinoe fawcettii* and Dieback *Colletotrichum gloeosporioides* Diseases of Lemon**. The Agriculturists, [S. l.], v. 9, n. 1-2, p. 99–105, 2012. Disponível em: <<https://www.banglajol.info/index.php/AGRIC/article/view/9484>>. Acesso em: 5 out. 2021.

SILVA JUNIOR, G. J., FEICHTENBERGER, E., SPÓSITO, M. B., AMORIM, L., BASSANEZI, R. B., GOES, A. **Pinta preta dos citros: a doença e seu manejo**. 1 ed. Araraquara: Fundecitrus, 2016.

SILVA, B. M.; PEREIRA, J. M.; ROCHA, L. C. D. **Nível de infestação de *Diaphorina citri* no Município de Inconfidentes, Minas Gerais**. Citrus Research & Technology, v. 40, p. 1-10, 2020.

SILVA, P. R.; FRANCISCO, V. L. F. S.; BAPTISTELLA, C. S. L. **Caracterização da cultura do limão no Estado de São Paulo**. 2001-2007, Informações Econômicas SP, v.38, n.7, 2008.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S.; BIZZO, H. R.; D'AVILA, L. A.; **Rev. Bras. Pl. Med.** v. 8, n.14., 2006.

SOUZA, L. O. **Validação de método analítico por cg/dic para análise de limoneno em óleo essencial de *citrus sp.*** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SOUZA, M. C. **Reação de genótipos de tangerinas a *Alternaria alternata* e *Elsinoe fawcetti*: resistência, suscetibilidade e acúmulo de metabólitos.** 70 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo, 2009. Disponível em: <<https://www.fcav.unesp.br/Home/download/pgtrabs/gmp/m/3811.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2021.

SPÓSITO, M. B., AMORIM, L., BELASQUE JR., J., BASSANEZI, R. B., AQUINO, R. **Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade da mancha preta em frutos cítricos.** Fitopatologia Brasileira, v. 29, p. 81-85, 2004.

TEIXEIRA D.C., SAILLARD C., COUTURE C., MARTINS E.C., WULFF N.A., EVEILLARD-JAGOUÉIX S., YAMAMOTO P.T., AYRES A.J., BOVÉ J.M. **Distribution and quantification of *Candidatus Liberibacter americanus*, agent of huanglongbing disease of citrus in São Paulo State, Brasil, in leaves of an affected sweet orange tree as determined by PCR.** Molecular and Cellular Probes v. 22, p. 139-150, 2008.

TEIXEIRA, J. P. F.; MARQUES, M.O.M.; FIGUEIREDO, J.O. **Composição química de óleos essenciais de quinze genótipos de limão em duas épocas de colheita.** Citrus Research & Technology v. 34, n. 2, p.65-74, 2013.

TIMMER, L.W. **Disease of fruit and foliage.** In: TIMMER, L.W. DUNCAN, L.W. (Ed.). Citrus Health Management. Florida: APS Press, p.107-123, 1999.

VAN DER MERWE H. E. **Fatores que afetam o conteúdo do óleo de rind do limão [Limão cítrico(L) Bunn.C.]** Dissertação (Mestrado em Ciências em Agricultura, Área de concentração: Fruticultura). Universidade de Stellenbosch, África do Sul, 2005.

VIANA, E.S.; REIS, R.C.; SENA, L.O.; SANTOS JÚNIOR, M.B.; SILVA, P.N.R. **Produção de bananas-passa com frutos de variedades melhoradas e avaliação da qualidade físico- química e sensorial.** Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v.35, n.1, p.1- 10, 2017.

YAMAMOTO, P. T. **Manejo e controle do huanglongbing (HLB) dos cítricos.** Investigación Agraria, v. 16, n. 2, p. 69-82, 2015.

YEKELER, F. Z., OZYUREK, H., & TAMER, C. E. **A functional beverage: lemonade.** International Journal of Agricultural, Biosystems Science and Engineering, v. 7(7), p. 617-620, 2013.