



**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios
Instituto Biológico
Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e
Ambiental no Agronegócio**

**Efeitos provocados pela Mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus
woglumi*) sobre a morfologia, anatomia e fotossíntese de folhas de lima
ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka).**

Renata Espolador São João

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio. Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

São Paulo
2017

Renata Espolador São João

Efeitos provocados pela Mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*) sobre a morfologia, anatomia e fotossíntese de folhas de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka).

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Orientador:
Professor Dr. Adalton Raga

São Paulo
2017

Eu, Renata Espolador São João, autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico, de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

Assinatura: _____ Data ___/___/___

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo
Núcleo de Informação e Documentação – IB

São João, Renata Espolador.

Efeitos provocados pela mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*) sobre a morfologia, anatomia e fotossíntese de folhas de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka). / Renata Espolador São João. - São Paulo, 2017.

54 p.

|

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Biodiversidade: caracterização, interações, interações ecológicas em agroecossistemas.

Orientador: Adalton Raga.

Versão do título para o inglês: Effects of citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi*) on the morphology, anatomy and photosynthesis of citrus leaves.

1. *Citrus latifolia* 2. Insecta 3. Aleyrodidae 4. Morfologia vegetal 5. Fisiologia vegetal I. São João, Renata Espolador II. Raga, Adalton III. Instituto Biológico (São Paulo). IV. Título.

IB/Bibl./2017/009

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Renata Espolador São João

Título: Efeitos provocados pela mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*) sobre a morfologia, anatomia e fotossíntese de folhas de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Roberto e
Adriana, que sempre souberam valorizar e
incentivar a minha educação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais, que me deram educação e me ensinaram os valores da vida. Vocês se sacrificaram, se dedicaram, abdicaram de tempo e de muitos projetos pessoais por mim e eu devo tudo que sou a vocês. Serei eternamente grata por tudo e tenho muito orgulho de tê-los em minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Adalton Raga por sua ajuda nos momentos mais críticos, por acreditar na minha capacidade e no futuro deste projeto e contribuir para o meu crescimento profissional e por ser também um exemplo a ser seguido.

Ao Prof. Dr. Rafael Ribeiro da Universidade Estadual de Campinas pela colaboração no desenvolvimento dessa pesquisa.

Ao aluno de iniciação científica Ícaro Dias do Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas, pela ajuda nos trabalhos de campo.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio, pelos ensinamentos.

À Agencia Paulista de Tecnologia dos Agronegócios de Presidente Prudente por ceder o espaço e os equipamentos necessários para realização deste trabalho.

À Dra. Sônia Montes por seus ensinamentos, incentivo e pelas horas de conversa, além de ser um modelo de pessoa e profissional.

Aos meus amigos pela convivência, apoio e descontração. Vocês tornaram essa jornada mais suave e alegre.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia Econômica do Instituto Biológico, pela ajuda dada em todo o trabalho, pelo companheirismo, amizade e por todos os momentos agradáveis que me proporcionaram.

A todos que direta ou indiretamente estiveram ao meu lado nessa conquista.

Obrigada!

EPÍGRAFE

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível. ”

Charles Chaplin

RESUMO

SÃO JOÃO, Renata Espolador. **Efeitos provocados pela mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*) sobre a morfologia, anatomia e fotossíntese de folhas de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka).** 2017. 54f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2017.

A mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) é uma praga de hábito polífago amplamente distribuída no Brasil e pode afetar a produção dos citros. O conhecimento das características morfológicas das espécies de plantas auxilia no entendimento dos mecanismos de defesa contra as pragas. Este estudo tem como objetivo caracterizar os danos provocados sobre a morfologia, anatomia e fisiologia de folhas infestadas por ninfas e adultos de *A. woglumi*. Folhas de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas pela mosca-negra-dos-citros foram coletadas e analisadas em dois pomares, ambos instalados em Mogi Mirim (SP), Brasil. Em laboratório, folhas coletadas passaram por processo de emblocamento em parafina para corte histológico e posterior análise em microscópio de suas características anatômicas, dentre elas espessura dos parênquimas paliçádico e esponjoso, epidermes abaxial e adaxial, e espessura total da folha. Para o estudo das características morfológicas, folhas coletadas foram levadas ao laboratório para pesagem de massa fresca e massa seca e medida da área foliar, posteriormente foi calculada a área foliar específica pela razão entre área foliar e massa seca. As medidas fisiológicas foram feitas em campo. As folhas foram analisadas com um medidor de fotossíntese ultracompacto, obtendo resultados de concentração interna de CO₂, taxa de transpiração, condutância estomática e fotossíntese. Os resultados de cada parâmetro de folhas sadias e infestadas, foram analisados (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey (p = 0,05). Folhas de lima ácida Tahiti infestadas por adultos de *A. woglumi* mostraram maior espessura dos tecidos em secção transversal em relação as folhas sadias. Folhas infestadas por ninfas apresentaram menor espessura total da folha e de seus tecidos epiderme adaxial e parênquimas paliçádico e esponjoso que as folhas não infestadas. Maior concentração interna de CO₂ e menor taxa de fotossíntese foram encontradas em folhas infestadas por ninfas. A taxa de transpiração, a condutância estomática e a taxa de fotossíntese também foram menores em folhas jovens infestadas por adultos. Folhas maduras infestadas por ninfas apresentaram

menores valores de massa fresca e massa seca e maior valor de área foliar específica. Em folhas jovens, a área foliar, a massa fresca e a massa seca foram maiores em folhas infestadas por adultos, enquanto que a área foliar específica foi menor. Concluiu-se que existem alterações na morfologia e fisiologia das plantas de lima ácida Tahiti infestadas por *A. woglumi*. No caso das folhas jovens, essas alterações podem indicar o desenvolvimento de um mecanismo de defesa da planta ao ataque do inseto.

PALAVRAS-CHAVE: *Citrus latifolia*, Insecta, Aleyrodidae, Morfologia vegetal, Fisiologia vegetal.

ABSTRACT

SÃO JOÃO, Renata Espolador. **Effects of citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi*) on the morphology, anatomy and photosynthesis of Tahiti acid lime (*Citrus latifolia* Tanaka) leaves.** 2017. 54f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2017.

Citrus-black-fly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) is a polyphagous pest widely distributed in Brazil that may affect the citrus yield. The knowledge of morphological characteristics of plant species helps understanding the defense mechanisms developed against herbivorous. This study aims to characterize the damage on morphology, anatomy and physiology of Tahiti lime leaves infested by nymphs and adults of *A. woglumi*. Tahiti lime leaves infested and uninfested by the citrus black fly were collected and analyzed in two orchards, both installed in Mogi Mirim (SP), Brazil. In the laboratory, collected leaves went through paraffin embedding process for histological section and subsequent microscopic analysis of their anatomical characteristics, including thickness of palisade and spongy parenchyma, abaxial and adaxial epidermis, and total leaf thickness. To study the morphological characteristics, collected leaves were taken to the laboratory to weigh fresh mass and dry mass and measure the leaf area, later the specific leaf area was calculated by the ratio between leaf area and dry mass. The physiological measurements were made in the field. Leaves were analyzed through an ultra-compact photosynthesis measurer, obtaining results of internal CO₂ concentration, transpiration rate, stomatal conductance and photosynthesis. The results of each parameter of infested and non-infested leaves were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the averages compared by Tukey's test ($p = 0,05$). Tahiti lime acid leaves infested by adults of *A. woglumi* showed a higher tissue thickness in cross section compared to healthy leaves. Leaves infested by nymphs showed smaller leaf thickness and their tissues, adaxial epidermis and palisade and spongy parenchyma, than uninfested leaves. Higher internal CO₂ concentration and lower photosynthesis rate were found in leaves infested by nymphs. The transpiration rate, stomatal conductance and photosynthesis rate were also lower in young leaves infested by adults. Mature leaves infested with nymphs presented lower values of fresh mass and dry mass and higher value of specific leaf area. In young leaves, leaf area, fresh mass and dry mass were higher in leaves infested by adults, while the specific leaf area was smaller. It was concluded that there are modifications in the

morphology and physiology of Tahiti acid lime trees infested by *A. woglumi*. In the case of young leaves, these changes may indicate the development of a plant defense mechanism to attack the insect.

KEYWORDS: *Citrus latifolia*. Insecta. Aleyrodidae. Plant morphology. Plant physiology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Adulto de mosca-negra-dos-citros, <i>A. woglumi</i>	09
Figura 2 – Folhas de lima ácida Tahiti infestadas por adultos (A) e ninfas (B) de <i>Aleurocanthus woglumi</i>	11
Figura 3 – Micrótomo de rotação utilizado para realização dos cortes transversais foliares	18
Figura 4 – Representação do corte transversal de uma folha de lima ácida Tahiti	18
Figura 5 – Corte transversal de folha madura de lima ácida Tahiti sem infestação de ninfas de <i>A. woglumi</i>	23
Figura 6 – Corte transversal de folha madura de lima ácida Tahiti com infestação de ninfas de <i>A. woglumi</i>	23
Figura 7 – Corte transversal de folha jovem de lima ácida Tahiti sem infestação de adultos	25
Figura 8 – Corte transversal de folha jovem de lima ácida Tahiti com infestação de adultos	25

LISTA E TABELAS

- Tabela 1 – Espessura dos tecidos foliares (μm) de lima ácida Tahiti, obtida em corte transversal de folhas maduras infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi* 22
- Tabela 2 – Espessura dos tecidos foliares (μm) de lima ácida Tahiti, obtida em corte transversal de folhas jovens infestadas e não infestadas por adultos de *A. woglumi* 24
- Tabela 3 – Medidas de trocas gasosas em folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi* 26
- Tabela 4 – Medidas de trocas gasosas em folhas jovens de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por adultos de *A. woglumi* 27
- Tabela 5 – Medidas morfológicas de folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi* 28
- Tabela 6 – Medidas morfológicas de folhas jovens de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por adultos de *A. woglumi* 28

SUMÁRIO

1. INTROUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. OBJETIVO GERAL	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
3.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CITRICULTURA	4
3.2. CARACTERÍSTICAS DE LIMA ÁCIDA TAHITI (<i>Citrus latifolia</i> Tanaka)	5
3.3. ALEYRODIDAE E SUA IMPORTÂNCIA NA CITRICULTURA	6
3.3.1. Histórico e distribuição geográfica.....	7
3.3.2. Descrição e bioecologia	7
3.3.3. Principais hospedeiros, danos e importância econômica	10
3.3.4. Inspeção, monitoramento e controle	11
3.4. INTERAÇÃO INSETO-PLANTA	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS POMARES.....	16
4.2. PARÂMETROS HISTOLÓGICOS	16
4.2.1. Metodologia de coleta de folhas.....	16
4.2.3. Parâmetros avaliados.....	18
4.3. PARÂMETROS MORFOLÓGICOS.....	19
4.3.1. Metodologia de coleta das folhas	19
4.3.2. Parâmetros avaliados.....	19
4.4. PARÂMETROS FISIOLÓGICOS.....	20
4.4.1. Metodologia e parâmetros avaliados.....	20
4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1. ANÁLISES HISTOLÓGICAS	22
5.2. ANÁLISES FISIOLÓGICAS	26
5.3. ANÁLISES MORFOLÓGICAS	27
6. CONCLUSÕES	30
7. REFERÊNCIAS	31

1. INTRODUÇÃO

Introduzidas no Brasil pelos portugueses logo no início da colonização, as plantas cítricas chegaram a ser confundidas com plantas nativas devido a sua rápida adaptação às nossas condições climáticas. As plantas foram trazidas com o intuito de diminuir as perdas de tripulação pelo escorbuto, doença que matava a maior parte das tripulações, criando um abastecimento natural de vitamina C (NEVES; JANK, 2006).

A citricultura vem ganhando cada vez mais espaço no agronegócio brasileiro, devido ao aumento do mercado e o aprimoramento da atividade, além de representar um setor altamente organizado e competitivo (NEVES et al., 2010). O Brasil é o líder mundial de produção de citros e de exportação de suco de laranja concentrado congelado (BRASIL, 2015), sendo que o estado de São Paulo possui o maior parque citrícola do país (NEVES et al., 2010). As agroindústrias visam, principalmente, a obtenção de altos níveis de produtividade. Para alcançar este resultado é necessário o controle das pragas, sob constante preocupação com a diminuição do uso de agrotóxicos, responsável por danos ambientais e à saúde da população (SANTOS, 2014).

Assim como as demais frutíferas, os citros estão suscetíveis ao ataque de insetos. A mosca-negra-dos-citros (MNC) *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae) representa uma ameaça à produção de citros, devido ao seu potencial de dano econômico. O inseto pode causar danos diretos, através da sucção de seiva para sua alimentação e indiretos, com o aparecimento da fumagina, decorrente da excreção açucarada realizada pelo inseto sobre a folha das plantas hospedeiras. A presença da mosca resulta na perda de produtividade e/ou queda da qualidade dos frutos, por conta do estresse decorrente da redução dos processos de fotossíntese e respiração da planta (MELLO; MAIA, 2008).

A MNC foi uma praga quarentenária A2 para o Brasil desde o seu primeiro relato no país em julho de 2001. No entanto, devido a sua ampla disseminação pelo território nacional, em dezembro de 2014 foi publicada sua exclusão da lista de pragas quarentenárias presentes no Brasil (BRASIL, 2014). Nas regiões onde ocorre, existem relatos de perdas na produção de até 80% (RAGA; COSTA, 2008).

Originária da Ásia, *A. woglumi* é um inseto sugador que vive na região abaxial da folha e tem como hospedeiro primário os citros, caju e abacate, podendo ser encontrado em mais de trezentas espécies vegetais. O status praga da MNC está relacionado à sua capacidade

de dispersão e adaptação a diferentes condições climáticas (OLIVEIRA et al., 2001; SILVA, 2001; OLIVEIRA et al., 1999).

As características morfológicas e fisiológicas das espécies vegetais podem auxiliar a entomologia agrícola na compreensão dos danos causados e dos mecanismos de resistência das plantas aos insetos. Estudos sobre a influência de insetos fitófagos sobre a estrutura interna das plantas são muito escassos, em especial estudos sobre a mosca-negra-dos-citros.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho objetiva caracterizar os danos na morfologia, anatomia e fotossíntese de folhas de lima ácida Tahiti infestadas por ninfas e adultos da mosca-negra-dos-citros, *A. woglumi*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os danos provocados na anatomia das folhas pela alimentação de adultos e ninfas de *A. woglumi*.
- Conhecer os efeitos provocados por ninfas e adultos de *A. woglumi* sobre a fotossíntese.
- Avaliar a influência da infestação de adultos e ninfas de *A. woglumi* sobre a morfologia foliar.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA CITRICULTURA

Estudos sugerem que a introdução dos citros no nosso país ocorreu no início do período de colonização. Devido às características edafo-climáticas brasileiras, plantas cítricas encontraram boas condições para seu estabelecimento e propagação, se estendendo por todo o território nacional (NEVES et al., 2010). Na década de 1980, o Brasil se tornou o maior produtor mundial de citros, devido ao seu alto grau de desenvolvimento tecnológico, promovendo crescimento socioeconômico, através da geração direta e indireta de empregos na área rural (NEVES et al., 2010; LOPES et al., 2011).

A proibição da exportação de laranjas *in natura* durante o período da Segunda Guerra Mundial abriu espaço para a comercialização do suco cítrico. Essa alternativa teve como consequência o surgimento de empresas processadoras e exportadoras de suco, que trouxeram benefícios para todos os setores da cadeia produtiva e ainda alavancou o desenvolvimento de pesquisas científicas, proporcionando avanços tecnológicos e de mercado de trabalho (NEVES; JANK, 2006).

O setor citrícola possui um grande peso na criação de empregos, na formação de capital, na geração de renda, na agregação de valor e no desenvolvimento regional. Foi responsável pela promoção de um total de 230 mil empregos diretos e indiretos no Brasil e uma massa salarial anual de R\$ 676 milhões (NEVES et al., 2010). No Brasil, em 2015, houve uma produção de 1.180.271 toneladas de limão numa área de 47.391 ha, sendo desse total, 759.495 t produzidas no estado de São Paulo em área plantada de 23.730 ha (BRASIL, 2015).

A citricultura subdivide-se basicamente em dois produtos finais, a fruta *in natura* e o suco da fruta. No entanto, outros produtos derivados das frutas vêm ganhando cada vez mais espaço, como é o caso dos óleos essenciais (ZULIAN et al., 2013). O Brasil se encontra entre os principais países produtores deste setor, ao lado da Índia, China e Indonésia (BIZZO et al., 2009).

Segundo dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (ALICEWEB, 2012), no ano de 2011 o Brasil obteve um volume total exportado

superior a 24 milhões de quilogramas de óleos essenciais, equivalentes a mais de US\$ 128 milhões.

A citricultura esta suscetível às mudanças climáticas e às doenças que afetam as frutas, o que interfere na produção, preço de mercado e, conseqüentemente, em toda atividade (ZUIAN; DÖRR; ALMEIDA, 2013). A melhoria na qualidade dos frutos é uma demanda crescente do mercado. No entanto, a citricultura sofre ameaça competitiva, devido aos altos custos de insumos e a crescente incidência de pragas, responsáveis por um alto custo de manejo (MEDEIROS et al., 2009).

3.2. CARACTERÍSTICAS DE LIMA ÁCIDA TAHITI (*Citrus latifolia* Tanaka)

Citrus latifolia pertence à família Rutaceae, seu nome comum é limão Tahiti e teve origem no sudeste asiático, provavelmente na Índia ou no sul da China. Os citrinos em geral contêm açúcar, polissacarídeos, ácidos orgânicos, lipídios, carotenoides, vitaminas, minerais, flavonoides, limonoides amargos e compostos voláteis (PANDEY et al., 2011). O desenvolvimento foliar é representativo, cerca de 25% do peso fresco da árvore (JONES; STEINACKER, 1951). As plantas cítricas possuem alta densidade estomática e baixa condutividade hidráulica, devido ao sistema radicular pouco desenvolvido (POSSINGHAM et al., 1980; CASTLE, 1980).

Os citros pertencem ao grupo das plantas C3, com taxas fotossintéticas inferiores às das plantas C4. Mesmo entre o grupo C3 os citros estão na baixa faixa de atividade, juntamente com outras árvores tropicais e subtropicais (KRIEDEMANN, 1971). Taxas de assimilação de CO₂ entre 4 a 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ são observadas em condições ótimas de campo. Taxas mais elevadas são frequentemente obtidas em experimentos em estufa. Essas baixas taxas de assimilação são acompanhadas por baixas taxas de transpiração e extrema sensibilidade à baixa umidade (KRIEDEMANN; BARRS, 1981).

A lâmina foliar da lima ácida Tahiti é anfiestomática, possui tricomas em ambas superfícies foliares. As epidermes adaxial e abaxial são unisseriadas, as células possuem paredes finas dispostas de forma compacta e com a parede externa muito cutinizada. As células subepidérmicas adaxiais apresentam litocistos (invaginação da parede celular que contém um cristal de carbonato de cálcio denominado cistólito) e cistólitos (estruturas de carbonato de cálcio, encontradas sobre saliências da parede celular de algumas células

epidérmicas de determinadas plantas) semelhantes aos encontrados na nervura central. A estrutura do mesofilo é bifacial, possui parênquima paliçádico na superfície adaxial ou superior e parênquima esponjoso na superfície abaxial ou inferior. O parênquima paliçádico é composto por duas ou três camadas de células cilíndricas. Logo abaixo se encontram várias camadas de parênquima esponjoso, com células de diversos formatos e grandes espaços intercelulares. Tanto o parênquima paliçádico, quanto o esponjoso possuem cloroplastos (CAÑIZARES et al., 2005).

3.3. ALEYRODIDAE E SUA IMPORTÂNCIA NA CITRICULTURA

Os aleirodídeos estão associados a diversas famílias vegetais bastante diferentes entre si e existem várias descrições sobre o comportamento de adultos de aleirodídeos na literatura. Seu vôo rápido confere aparência de pequenas mariposas brancas e permanecem a maior parte do tempo em folhas jovens, sendo geralmente encontrados agrupados na superfície inferior das folhas (ONILLON, 1977).

A família Aleyrodidae está associada a muitas plantas silvestres e ornamentais. Muitas espécies são reconhecidas como pragas de culturas de importância econômica, pois se alimentam da seiva da planta, algumas transmitem viroses e substâncias tóxicas, outras facilitam a entrada de patógenos ou o aparecimento de fumagina. Os aleirodídeos estão distribuídos em 161 gêneros, que compreendem aproximadamente 1550 espécies. Essa família se divide em três subfamílias: Aleyrodinae, Aleurodicinae e Udamoselinae (CASSINO; NASCIMENTO, 1999; MARTIN; MOUND, 2007).

Os membros dessa família são pequenos insetos com comprimento inferior a 0,5 cm. Os adultos possuem quatro asas membranosas cobertas por uma camada pulverulenta. A identificação normalmente é feita através da análise do pupário (última fase jovem), que são encontrados com maior facilidade por ficarem fixos às folhas em que se criam (LIMA, 1940). Muitas espécies de aleirodídeos podem ser associados a uma única espécie hospedeira e poucas são consideradas polífagas. Estudos sobre a distribuição geográfica dos aleirodídeos e seus hospedeiros ainda são escassos, a maior parte da informação se refere a poucas espécies de importância econômica (RAGA et al., 2011).

O gênero *Aleurocanthus* compreende 69 espécies em todo o mundo, destas 29 são encontradas no Oriente (China, Índia e sudeste Asiático), 23 na África e 17 na Austrália e

região do Pacífico (DOWELL; CHERRY, 1981). No Brasil, há apenas uma espécie conhecida, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (MOLINA et al., 2014).

3.3.1. Histórico e distribuição geográfica

A MNC é uma importante praga dos citros, originária do sudeste asiático, que se encontra disseminada em regiões tropicais e subtropicais da África, Índia Ocidental e Américas (HEU; NAGAMINE, 2001), além da Oceania (COSAVE, 1999). Foi primeiramente registrada no hemisfério ocidental na Jamaica em 1913, sendo em seguida relatada em Cuba 1916; Estados Unidos em 1934 (Flórida, Havaí e Texas), no México em 1935; na República Dominicana em 1969, e Guiana Francesa em 1995 (MARTIN, 1999). Atualmente tem sido detectada em todas as zonas citrícolas da Venezuela onde sua primeira ocorrência se deu em 1965 (MARTINÉZ, 1982).

Sua primeira ocorrência no Brasil foi relatada no estado do Pará, em 16 de maio de 2001, em jardins da cidade de Belém. Considerando a primeira detecção da MNC na Venezuela em 1965, a entrada da mesma somente nessa ocasião, pode estar relacionada à barreira natural formada pela floresta Amazônica, que se constitui grande obstáculo natural à introdução de pragas oriundas das Américas Central e do Norte (SILVA, 2005). No estado de São Paulo, houve o primeiro relato de sua ocorrência em 10 de março de 2008, no município de Arthur Nogueira. Detectou-se também a ocorrência de mosca-negra-dos-citros nos municípios de Cosmópolis, Paulínia, Engenheiro Coelho e Limeira (RAGA; COSTA, 2008).

Embora a MNC tenha dispersão ativa lenta, novos registros da praga são observados em locais distantes daqueles previamente infestados. Esse fato se deve ao transporte e comercialização de mudas de fruteiras e frutos cítricos contendo pedúnculo com folhas, oriundos de regiões infestadas (RAGA et al., 2013).

3.3.2. Descrição e bioecologia

Os ovos são colocados na superfície abaxial das folhas, em forma de espiral, fixados por um pedúnculo inserido no interior dos estômatos da folha e medem cerca de 0,2

mm de comprimento. Inicialmente, os ovos apresentam cor amarelo-alaranjado, tornando-se mais escuros no decorrer do desenvolvimento do embrião. Normalmente as fêmeas colocam entre 35 a 50 ovos, que eclodem após 7 a 10 dias (NGUYEN; HAMON, 1993; OLIVEIRA et al., 2001; CUNHA, 2003; RAGA; COSTA, 2008). Provavelmente, as fêmeas preferem os locais de oviposição da copa, que proporcionem maior umidade e, conseqüentemente, maior viabilidade dos ovos (RAGA et al., 2016).

As ninfas de 1º instar possuem corpo oval alongado e três pares de pernas, medindo 0,3 mm de comprimento e 0,15 mm de largura, nesta fase ocorre a dispersão dos imaturos por um curto período de tempo, que tem duração de 7 a 16 dias. Posteriormente as ninfas fixam o aparato bucal nas folhas e perdem as pernas tornando-se sésseis. As ninfas de 2º instar medem 0,4 mm de comprimento e 0,2 mm de largura, apresentam corpo coberto por espinhos e coloração marrom-escura com manchas amareladas e duram de 8 a 13 dias. As ninfas de 3º instar são semelhantes às de 2º instar, no entanto, apresentam corpo com coloração enegrecida medindo 0,87 mm de comprimento e 0,74 mm de largura, com duração de 6 a 20 dias (RAGA; COSTA, 2008; RONCHI-TELES et al., 2009). As ninfas de 4º instar, também denominadas pupas, tem duração de 16 a 50 dias, quando uma fina camada de cera branca e filamentosa é secretada ao redor do corpo formando visivelmente uma franja marginal (RAGA; COSTA, 2008).

O adulto emerge na parte anterior da pupa por uma abertura em forma de T e o tempo normal para emergência é de 14 a 30 minutos. O ciclo de ovo a adulto dura cerca de 45 a 133 dias, dependendo das condições ambientais (NGUYEN; HAMON, 1993). Decorridas 24 horas de sua emergência, o adulto possui coloração azul-acinzentada, devido a uma fina camada pulverulenta que recobre as asas e o corpo com faixas avermelhadas no tórax e abdome (NGUYEN et al., 2007). As asas anteriores, além da cor escura predominante, têm pequenas manchas pontuais na região mediana e uma linha transversal na parte final (SILVA, 2005) (Fig. 1).

O sexo é facilmente diferenciado pelo tamanho, pois o macho mede 0,9 mm de comprimento, enquanto a fêmea mede 1,3 mm (NGUYEN et al., 2007). A razão sexual é de um macho para uma fêmea (CHERRY; FITZPATRICK, 1979).



Figura 1 – Adulto de mosca-negra-dos-citros, *A. woglumi* (Foto: R.E. São João)

A MNC possui preferência de infestação pela região inferior da planta, demonstrando maior quantidade de indivíduos por folha na região inferior de plantas de lima ácida Tahiti e ainda os quadrantes sul, norte e oeste inferiores das plantas apresentam maiores números de ninfas e posturas por folha (SALDANHA, 2016).

Patel e Patel (2006) observaram a população MNC durante todo o ano na Índia, porém com picos populacionais no verão e redução significativa no inverno. Resultado semelhante foi obtido em laranja “Pêra” em Manaus, AM (GONÇALVES, 2013). Segundo Saldanha (2016), os picos populacionais dos insetos sofrem influência de diversos fatores no campo. Além das variáveis clima, umidade, temperatura e nutrição da planta, ainda ocorre a competição por alimento com outras pragas em uma mesma planta.

A duração do ciclo e o desenvolvimento da MNC estão intimamente relacionados às condições ambientais. Temperaturas entre 20°C e 34°C e umidade relativa do ar entre 70% e 80% representam as condições ideais para a MNC (EPPO, 2008). Segundo Mello e Maia (2008), ventos fortes e chuvas pesadas podem provocar o desalojamento ou até mesmo a morte dos insetos. Vieira et al. (2014), constataram que existe uma correlação positiva entre a precipitação pluvial e o número total de fêmeas e machos de *A. woglumi*. O mesmo ocorreu com a umidade relativa, que também apresentou correlação positiva com o número total de insetos. A temperatura ótima para o desenvolvimento da MNC é próxima dos 25°C, faixa em que o desenvolvimento passa a ser mais acelerado, resultando em um aumento populacional. A temperatura máxima oscila em torno de 40°C, sendo que acima dessa temperatura o inseto entra em uma dormência temporária. O mesmo ocorre em temperaturas abaixo de 15°C (MORAES et al., 2014).

3.3.3. Principais hospedeiros, danos e importância econômica

A alimentação dos insetos sugadores ocorre através da sucção da seiva elaborada, diretamente do floema. Essa ação pode provocar danos diretos resultando no retardamento do crescimento geral da planta e danos indiretos através da transmissão de viroses ou injeção de saliva tóxica (GULLAN; CRANSTON, 1998). A MNC apresenta esse tipo de aparelho bucal e se alimenta da planta durante todas as fases do seu desenvolvimento (OLIVEIRA et al., 2001).

Segundo Silva (2001), a MNC é uma praga de hábito alimentar polífago e por isso pode se desenvolver em diversos hospedeiros. Os hospedeiros primários de *A. woglumi* são as plantas do gênero *Citrus*, cajueiro e abacateiro e os secundários são o cafeeiro e a mangueira. No entanto, quando ocorre em altas populações, a MNC ataca outras espécies botânicas, tendo sido relatadas trezentas espécies hospedeiras dessa praga (NGUYEN; HAMON, 1993; CUNHA, 2003; NGUYEN; HAMON, 2003).

A dispersão da MNC pode ocorrer por movimentos de adultos entre pomares, auxiliados pelo vento, ou de forma antrópica, pelo transporte de mudas ou plantas infestadas. A sua infestação pode ocorrer verticalmente na planta e horizontalmente entre plantas. Este aleirodídeo possui capacidade de voo de 187 metros em 24 horas (OLIVEIRA et al., 2001; MELLO; MAIA, 2008).

Assim como Raga e Costa (2008) observaram a presença da MNC durante o ano todo, Saldanha (2016) também constatou a presença do inseto infestando pomar cítrico durante toda a duração do estudo (16 meses). Da mesma forma foi verificada a incidência de adultos durante todo o experimento realizado com lima ácida Tahiti por Vieira et al. (2014) e em outras espécies cítricas no Maranhão por Medeiros et al. (2009).

A MNC pode causar danos diretos e indiretos na planta. Tanto os adultos, quanto as ninfas, se alimentam diretamente do floema deixando a planta debilitada por falta de nutrientes e podendo resultar no murchamento ou morte da mesma. A infestação por *A. woglumi* pode resultar em perdas de produção de até 80% (OLIVEIRA et al., 2001; RAGA; COSTA, 2008). Para o inseto, a alimentação no floema é vantajosa pois possui todos os nutrientes em forma solúvel e de fácil assimilação (PANIZZI; PARRA, 2009).

O excesso de seiva sugada resulta na excreção de uma substância açucarada sobre folhas e frutos que permite o desenvolvimento de fungos saprófitos, formando uma camada escura sobre a folha, denominada fumagina. Essa estrutura provoca uma redução da

respiração e fotossíntese, além da queda do nível de nitrogênio. Em altas concentrações, diminui a qualidade e o desenvolvimento dos frutos, prejudicando a produção e reduzindo o valor comercial (DOWELL; CHERRY, 1981; OLIVEIRA et al., 2001; NGUYEN; HAMON, 2003; MELLO; MAIA, 2008).

A sucção da seiva pela MNC pode provocar uma redução de vários produtos orgânicos da folha, o teor de nitrogênio (N) é um indicativo disso. Uma média de 5 a 10 ninfas por centímetro quadrado da folha é suficiente para reduzir o nível de nitrogênio abaixo de 2,2%, necessários para boa frutificação em laranja (CUNHA, 2003).

Segundo Pena et al. (2008), os citricultores paulistas devem ter maior atenção com a ocorrência da MNC no estado, que deve refletir no uso de inseticidas na cultura. É necessária a adoção de um manejo integrado, visando reduzir o uso excessivo desses produtos que podem causar a morte de inimigos naturais. Deve ser também incentivada, pesquisas com o uso de parasitoides, predadores e fungos entomopatogênicos para o controle biológico da MNC.

3.3.4. Inspeção, monitoramento e controle

Inicialmente os focos de *A. woglumi* ocorrem em áreas urbanas, em pequenos grupos e árvores isoladas, além disso o uso de armadilhas amarelas pode auxiliar quando a inspeção visual é insuficiente. A inspeção deve ocorrer na face inferior das folhas novas e maduras (Fig. 2), além disso a praga apresenta a característica de ovipositar de forma agrupada e de preferência na metade inferior da planta (CHERRY; FITZPATRICK, 1979; DOWELL; CHERRY, 1981; RAGA et al., 2016).

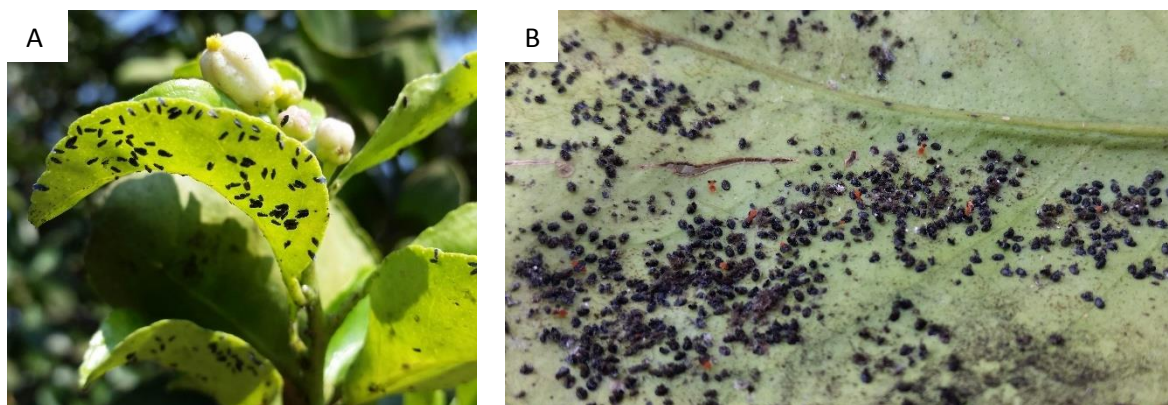


Figura 2 – Folhas de lima ácida Tahiti infestadas por adultos (A) e ninfas (B) de *A. woglumi*

Maia (2008) elaborou um plano de amostragem sequencial para o monitoramento da MNC. Neste plano, a área de amostragem é percorrida aleatoriamente ou em ziguezague para avaliação de ninfas ou adultos na planta amostrada. O número de plantas infestadas a cada dez plantas é acumulado a cada unidade amostrada e o valor acumulado é comparado com as linhas de decisões, optando pelo controle ou não. Se o valor acumulado permanecer entre valores intermediários, a amostragem deve continuar até atingir o número máximo esperado de unidades amostrais para a tomada de decisão.

A introdução da MNC em regiões produtoras de citros pode resultar em impactos graves, não somente do ponto de vista econômico, mas também ambiental. Isso porque, algumas medidas de controle adotadas podem apresentar efeitos sobre os recursos naturais e a adaptação da praga a outras espécies ainda não consideradas hospedeiras (LOPES et al., 2009). Existem diversos métodos de controle de *A. woglumi*, entre eles o controle cultural, químico, biológico e alternativo.

O controle cultural tem como finalidade algumas técnicas básicas como umedecer as linhas de plantio, com água ou óleo, a fim de se evitar poeira nas folhas e favorecer o desenvolvimento de inimigos naturais da praga; manter as barreiras naturais de vento como proteção; comprar somente mudas com garantia dos órgãos oficiais fiscalizadores competentes, podar e queimar ramos e galhos atacados, evitar o transporte de vegetais ou partes de vegetais infestados para áreas de não ocorrência da praga; produção e transporte de mudas de plantas hospedeiras em ambiente telado; lavagem e desinfecção de tratores, implementos e material de colheita e lavagem de frutos colhidos para comercialização e oriundos de pomares infestados pela praga (FRENCH; MEAGHER, 1992; RAGA; COSTA, 2008).

O uso de produtos químicos não é recomendado, devido aos danos que podem provocar ao meio ambiente, aos animais, aos inimigos naturais e ao homem. No entanto, no Brasil, o controle químico de ninfas e adultos de *A. woglumi* pode ser realizado com os produtos Ampligo® (clorantraniliprole + lambda-cialotrina), Kohinor 200 SC® (imidacloprido), Provado 200 SC® (imidacloprido), registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2015).

Os óleos minerais, vegetais ou derivados também podem oferecer resultados positivos no controle alternativo de *A. woglumi* e melhorar as estratégias de controle da praga, causando mínimo efeito nocivo sobre populações de inimigos naturais e espécies não-alvo (RAGA; COSTA, 2008).

O controle biológico apresenta uma alternativa para que a biodiversidade funcional do agroecossistema seja restaurada, pois os insetos possuem um ou mais inimigos naturais. Dessa forma, esses agentes benéficos podem ser manipulados de forma adequada para controlar a população de uma praga em um determinado agroecossistema (NICHOLLS, 2004). Comparado ao controle químico, o biológico possui muitas vantagens, pois não resulta em efeitos prejudiciais para o meio ambiente, animais e o homem e ainda impede a seleção de indivíduos resistentes (FRANCESCHINI et al., 2001).

O inimigo natural chave da mosca negra é o fungo entomopatogênico *Aschersonia aleyrodis*, um fungo alaranjado que se mostra mais comum em épocas de alta umidade relativa do ar (BATISTA et al., 2002; RAGA; COSTA, 2008). Outros inimigos naturais que merecem destaque são os microhimenópteros *Amitus hesperidum* Silvestri, *Encarsia opulenta* Silvestri e os fungos entomopatogênicos *Aegerita webberi* e *Fusarium* sp. No entanto, as espécies citadas de microhimenópteros não ocorrem no Brasil (RAGA; COSTA, 2008; NGUYEN et al., 1983).

Em todos os países onde há ocorrência da MNC, o controle biológico foi o método mais eficiente, reduzindo a densidade populacional a níveis de equilíbrio, sem causar danos econômicos (NGUYEN, 2008).

3.4. INTERAÇÃO INSETO-PLANTA

O impacto provocado pela herbivoria no desenvolvimento da planta depende do seu estágio de desenvolvimento, do tecido consumido pelo inseto e da intensidade e frequência do ataque (BEGON et al., 1996; CRAWLEY, 1997; STILING, 1999; BOEGE; MARQUIS, 2005). Normalmente, os insetos escolhem as plantas de acordo com seu conteúdo nutricional. Folhas e flores jovens são frequentemente preferidas, devido ao elevado conteúdo de nutrientes (ALMEIDA-CORTEZ, 2005).

A interação entre insetos e plantas representa um sistema dinâmico, pois está continuamente sujeito a mudanças (MELLO; SILVA-FILHO, 2002). As plantas não são passivas às injúrias provocadas pelos insetos e desenvolveram mecanismos de resposta (PINHEIRO et al., 1999; LARA, 1991). No intuito de diminuir esses danos, as plantas

desenvolveram defesas químicas e físicas, relacionadas à estrutura foliar (MELLO; SILVA-FILHO, 2002; HARBONE, 1988).

Os insetos constituem os principais consumidores da produção primária terrestre (THOMAZINI; THOMAZINI, 2000) e apresentam hábito herbívoro, ao menos em uma fase do seu ciclo de vida, desempenhando um importante papel ecológico, atuando como predadores, parasitas, polinizadores e fitófagos (EDWARDS; WRATTEN, 1981).

Plantas e insetos têm coexistido por 350 milhões de anos. Embora algumas destas interações sejam benéficas, tais como a polinização, a interação mais comum envolve o consumo de plantas e suas partes por insetos, provocando respostas das plantas através de seus mecanismos de defesa. Não é surpreendente que as estratégias utilizadas pelas plantas para tentar resistir ou escapar dos insetos herbívoros sejam muito diversas. Algumas espécies vegetais acumulam compostos que funcionam como defesas bioquímicas através de sua toxicidade, ou desenvolvem características físicas para proteção; outras plantas não comprometem recursos para acumulação de compostos de defesa, mas procuram minimizar os danos por herbívoros através de rápido crescimento, desenvolvimento, dispersão, ou escolha de habitat (GATEHOUSE, 2002).

Relações inseto-planta são fundamentais na distribuição e na abundância temporal e espacial das espécies, interferindo na biodiversidade (EDWARDS; WRATTEN, 1981). Essas interações têm profundas implicações, para a ecologia e os processos evolutivos e influenciam de modo significativo a sucessão ecológica, uma vez que os insetos possuem várias atividades benéficas, incluindo defesa e polinização, enquanto as plantas promovem abrigo, sítios de oviposição e alimento para a proliferação dos insetos (PANDA; KHUSH, 1995). No entanto, dependendo da intensidade do ataque, os insetos podem ser extremamente danosos, podendo levar a planta à morte (MELO; SILVA-FILHO, 2002).

Segundo Karban e Baldwin (1997), os mecanismos de defesa das plantas podem ser caracterizados como defesa constitutiva ou defesa induzida, podendo ter ação direta ou indireta sobre os insetos.

O mecanismo de defesa constitutiva é composto por estruturas morfológicas e compostos químicos que dificultam o acesso dos herbívoros às plantas, podendo ainda influenciar alguns parâmetros do ciclo biológico, como o desenvolvimento e a reprodução dos insetos (COLEY; BARONE, 1996; KARBAN; BALDWIN, 1997; LUCAS et al., 2000) e ácaros (FADINI et al., 2004), agindo de forma contínua. Esses podem ser encontrados em várias estruturas vegetais e em concentrações ou quantidades variadas de acordo com seu estágio de desenvolvimento (COLEY; BARONE, 1996; GOULD, 1998).

O mecanismo de defesa induzida se refere a qualquer mudança na morfologia ou fisiologia da planta como resultado da ação de insetos ou ácaros sobre a mesma, tendo como consequência a não preferência desses artrópodes por essa planta no caso de um novo ataque, melhorando o desempenho da planta (COLEY; BARONE, 1996; KARBAN; BALDWIN, 1997; AGRAWAL, 1998). Esse mecanismo pode influenciar parâmetros biológicos e reprodutivos dos herbívoros.

A principal defesa das espécies vegetais contra os fatores bióticos e abióticos é sua superfície externa (CORREA, 2007), coberta por substâncias lipídicas que compõem a denominada cutícula (EDWARDS; WRATTEN, 1981). A cutícula também apresenta um mecanismo de proteção, formando uma barreira de proteção contra a radiação solar e a perda de água por transpiração (AMARAL et al., 1985; HELBSING et al., 2000).

Segundo Turner et al. (1995), o espessamento da epiderme e de algumas células localizadas abaixo dessa como, por exemplo, a hipoderme ou os feixes de fibras, lignificados ou não, podem conferir maior dureza as folhas. Além disso, a deposição de sílica e lignina confere uma textura rígida à epiderme, formando uma barreira mecânica contra os insetos (LARA, 1991; MONTES et al., 2015).

Embora os compostos secundários e seus produtos não pareçam essenciais para as plantas, apresentam diversas vantagens para a sobrevivência, desenvolvimento e perpetuação da espécie (SANTOS, 2004). A riqueza muito grande de compostos vegetais secundários está relacionada, possivelmente, a imobilidade das plantas. Por não ter a possibilidade de fugir das pressões ambientais, suas únicas defesas são as estruturas físicas e compostos químicos (EDWARDS; WRATTEN, 1981).

Para que a planta garanta seu desenvolvimento, são necessários recursos do meio ambiente como luz, água, minerais, temperatura adequada, fotossíntese produzidos por meio da fotossíntese e hormônios reguladores de crescimento (DALE, 1988; MCINTYRE, 1987; BOYER, 1988; PATRICK, 1988), que dependem da concentração de nitrogênio nas folhas (HERMS; MATTSON, 1992; CHAPIN et al., 1993). A queda na produção de biomassa é consequência da perda progressiva do tecido fotossintético para o herbívoro, reduzindo a longevidade da folha (SARGERS; COLEY, 1995; CORTEZ, 2005).

Segundo Pizzamilgio-Gutierrez (2009), todo o conhecimento sobre as relações entre as plantas e os herbívoros auxilia no desenvolvimento de cultivares resistentes, sendo uma estratégia fundamental para o sucesso do manejo integrado de pragas (MIP).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS POMARES

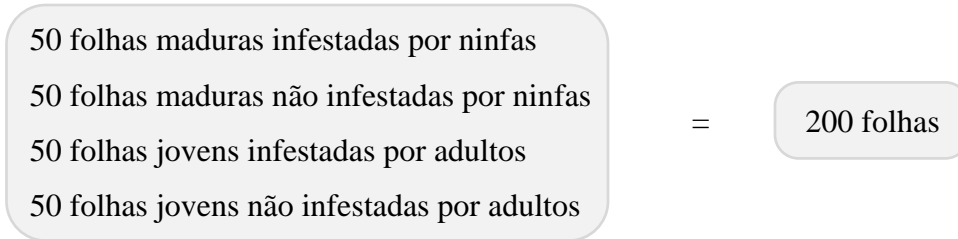
As coletas de folhas para o estudo das características anatômicas e morfológicas foram realizadas em pomar de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia*) enxertado em limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck), localizado no município de Mogi Mirim, Sítio da Chuva, Quadra 2 (22°32'49"S; 47°00'58"W, 612 m), região centro-leste do Estado de São Paulo. O pomar tinha 8 anos de idade, com espaçamento 7,0 x 4,0 m e as plantas apresentavam altura média de 3,5 a 4,0 m. O pomar utilizado estava certificado sob sistema orgânico e o controle das pragas era realizado através da pulverização de calda sulfocálcica, na frequência de três a quatro vezes por ano.

Os parâmetros fisiológicos foram mensurados em pomar de plantas de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka) enxertada em limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck) localizado no município de Mogi Mirim, Sítio Santa Maria (22°23'40"S; 46°59'42", 645 m), região centro-leste do Estado de São Paulo. O pomar tinha 5 anos de idade, espaçamento de 7 m x 3,5 m e com altura média de 2,5 m.

4.2. PARÂMETROS HISTOLÓGICOS

4.2.1. Metodologia de coleta de folhas

Folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas por ninfas de *A. woglumi* e livres de infestação foram coletadas aleatoriamente na região mediana da planta, assim como as brotações infestadas por adultos e brotações sem infestação. A coleta das folhas foi realizada em dezembro de 2015 e foi dividida da seguinte forma:



As folhas coletadas foram mantidas em recipientes de vidro de 500 ml contendo solução do fixador F.A.A. (formol, álcool etílico e ácido acético) para fixação dos tecidos foliares, permanecendo na solução por 48 horas. O material coletado foi conduzido ao Laboratório da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em Presidente Prudente (SP), para realização de estudos histológicos.

4.2.2. Preparo das amostras

Após a fixação do material em solução de F.A.A., as folhas foram lavadas com álcool 70% e posteriormente conservadas no mesmo reagente. O material foi emblocado em parafina para realização dos cortes histológicos, utilizando uma adaptação da técnica descrita no Manual de Técnicas em Histologia Vegetal (MACÊDO, 1997).

Foram cortados fragmentos de aproximadamente 1,0 cm² na região mediana da folha. Esses fragmentos foram desidratados em série alcoólica para evitar danos celulares como a plasmólise, passando por álcool 70%, 80%, 90% e 100%. Em seguida, o clareamento do material foi feito pelo uso do xilol, que penetra no material já desidratado através de substituições de álcool 100% por xilol até que restasse apenas xilol puro.

A infiltração da parafina foi feita gradualmente adicionando raspas de parafina durante a etapa final do xilol puro e posteriormente realizando-se trocas de xilol e parafina na estufa até que restasse apenas parafina. A inclusão do material foi realizada em blocos de papel de aproximadamente 2,0 cm³, que após o resfriamento parcial foram levados ao freezer para evitar cristalizações que prejudicassem o corte.

Secções de 12 µm foram obtidas com Micrótomo Leica RM2245 (Fig. 3). As fitas de parafina contendo os cortes foram distendidas sobre uma lâmina em uma placa aquecedora. A remoção da parafina foi realizada com xilol e os cortes foram reidratados passando por série alcóolica. Os cortes foram corados com azul de toluidina e montados em

lâminas (Exacta, lâminas lapidadas com uma extremidade fosca, 26 mm x 76 mm) com verniz vitral.



Figura 3 – Micrótopo de rotação utilizado para realização dos cortes transversais foliares.

As lâminas foram fotografadas em Microscópio Leica DM 750/4 (aumento de 40x), com câmera acoplada e as imagens foram armazenadas para posterior análise, utilizando o software Image J (Image J, National Institute of Health, USA).

4.2.3. Parâmetros avaliados

Foram avaliados a espessura dos tecidos em corte transversal de folhas de lima ácida Tahiti. Os tecidos avaliados foram: epiderme adaxial, parênquima paliçádico, parênquima esponjoso, epiderme abaxial e a espessura total da folha (Fig. 4).

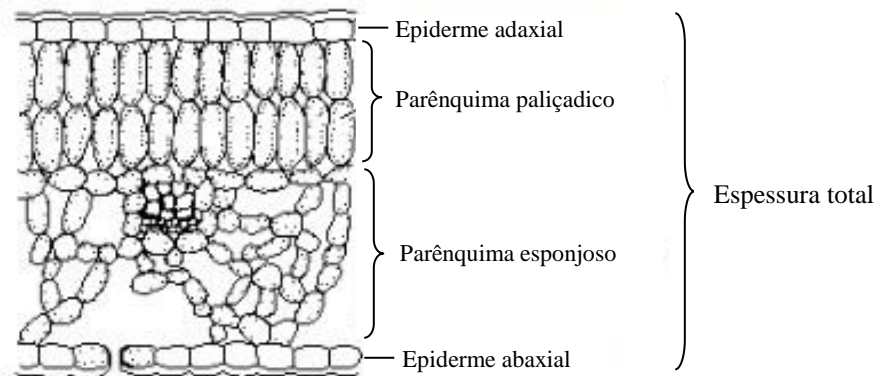
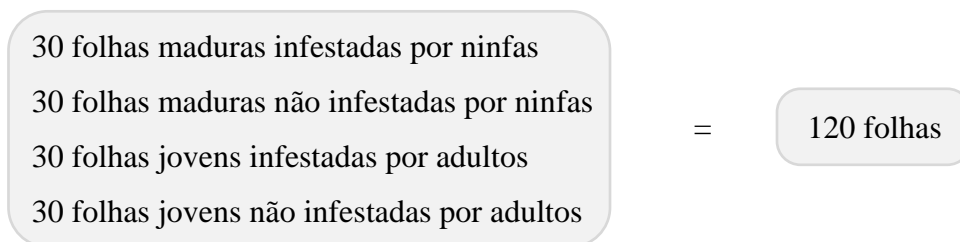


Figura 4 – Representação do corte transversal de uma folha de lima ácida Tahiti

4.3. PARÂMETROS MORFOLÓGICOS

4.3.1. Metodologia de coleta das folhas

A coleta de folhas de lima ácida Tahiti para a análise dos parâmetros morfológicos foi feita de forma aleatória na região mediana da planta ($\pm 1,60$ m). Foram coletadas folhas maduras infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi*, assim como folhas jovens infestadas e não infestadas por adultos da MNC. A coleta foi realizada em novembro de 2016 e foi dividida da seguinte forma:



4.3.2. Parâmetros avaliados

Dentro das características morfológicas, foram mensuradas a massa fresca, massa seca e a área foliar de plantas de lima ácida Tahiti. A partir das duas últimas medidas foi calculada a área foliar específica.

Para medida de área foliar foram feitos moldes exatos em papel sulfite da folha original coletada, que foram pesados em balança analítica de precisão para obtenção do peso de cada molde. Através do peso anteriormente conhecido (0,0072 g) de uma fração de folha sulfite contendo 1,0 cm² de área foi feito o cálculo da área de cada molde utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Área do molde} = \text{Peso do molde} / \text{Peso do cm}^2 \quad (1)$$

A obtenção da massa fresca (MF) foi feita na mesma balança rapidamente após a coleta das folhas. Posteriormente essas folhas foram acondicionadas em estufa controlada a 60°C por aproximadamente 48 h até a obtenção de peso constante para a medida da massa seca na mesma balança de precisão.

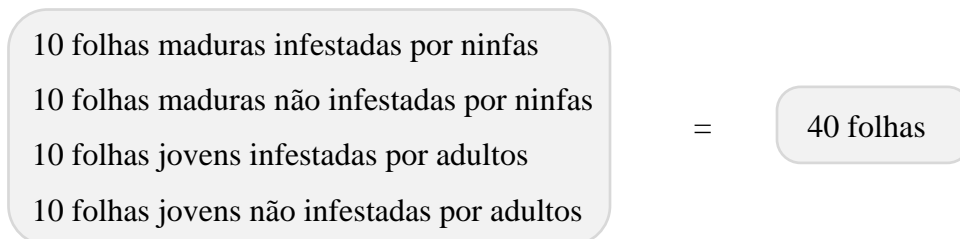
A área foliar específica (AFE) foi estimada por meio da relação entre área foliar (AF) e a massa seca (MS), utilizando a seguinte fórmula:

$$AFE = AF / MS \quad (2)$$

4.4. PARÂMETROS FISIOLÓGICOS

4.4.1. Metodologia e parâmetros avaliados

Foi utilizado um medidor de fotossíntese ultracompacto (LCi-SD, ADC BioScientificLtd.) para medir a concentração interna de CO₂ (C_i), taxa de transpiração (E), condutância estomática (g_s) e a taxa fotossintética (A). Foram analisadas folhas maduras e folhas jovens infestadas e não infestadas por ninfas e adultos de *A. woglumi* divididas da seguinte forma:



As medidas foram feitas no período entre 10:00h e 13:00h. A concentração de CO₂ durante as medições foi de 380 ± 5 μmol mol⁻¹ a radiação fotossinteticamente ativa foi 1550 ± 100 μmol m⁻² s⁻¹, a umidade relativa do ar foi 21 ± 1% e a temperatura 35 ± 1°C.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram comparadas folhas jovens infestadas por adultos com folhas jovens não infestadas por adultos e folhas maduras infestadas por ninfas com folhas maduras não infestadas por ninfas.

Os resultados de todos os parâmetros morfológicos, anatômicos e fisiológicos das folhas de lima ácida Tahiti foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p = 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ANÁLISES HISTOLÓGICAS

As folhas de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por ninfas de MNC apresentaram diferença estatística na espessura de seus tecidos, exceto a epiderme abaxial. As folhas infestadas obtiveram menores valores de espessura total, epiderme adaxial e parênquimas paliçádico e esponjoso que as folhas não infestadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Espessura dos tecidos foliares (μm) de lima ácida Tahiti, obtida em corte transversal de folhas maduras infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi*.

	ET	EPAD	PP	PE	EPAB
Sem infestação	322,00 \pm 1,56a	12,69 \pm 0,10a	63,58 \pm 0,52a	234,76 \pm 1,92a	9,04 \pm 0,06a
Com infestação	271,05 \pm 1,12b	11,73 \pm 0,07b	47,13 \pm 0,48b	201,88 \pm 0,92b	8,92 \pm 0,06a
Diferença percentual	15,82%	7,57%	25,87%	14,01%	-

Dentro de cada coluna, letras indicam significância estatística pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). ET = espessura total; EPDA = epiderme adaxial; PP = parênquima paliçádico; PE = parênquima esponjoso; EPAB = epiderme abaxial.

É possível observar que o tecido que sofreu maior influência pela alimentação de ninfas da MNC foi o parênquima paliçádico, com redução de 25,87%. Essa compactação do parênquima devido a redução da sua espessura interfere na distribuição de carbono, que pode resultar em queda da fotossíntese (AKIN; ROBINSON, 1982; AGRIOS, 1988).

Os traços estruturais das folhas, como características da superfície, anatomia e morfologia, têm o potencial de prevenir a alimentação de insetos e, em última instância, podem influenciar a escolha do hospedeiro pelo inseto (PEETERS, 2002).

A sucção da seiva do floema pelo inseto resulta na redução dos fotossimilados, afetando o crescimento e a distribuição dos nutrientes da folha, diminuindo o conteúdo interno da célula e conferindo compactação ao tecido e conseqüentemente, menor espessura (THOMPSON; GOGGIN, 2006) (Figuras 5 e 6).

Em estudo realizado por Dowell e Steinberg (1990) com 19 espécies de plantas hospedeiras, a maior densidade dos tecidos, como a epiderme e o tecido do parênquima, dificultou a inserção do aparato bucal de ninfas de primeiro instar da MNC. No entanto, essa correlação só explicou 21% da variação observada na sobrevivência de ninfas.

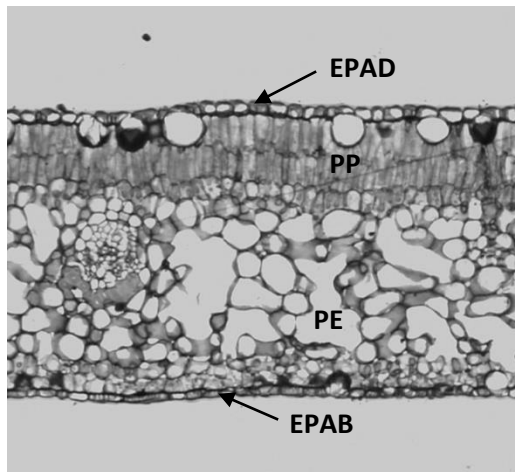


Figura 5 – Corte transversal de folha madura de lima ácida Tahiti sem infestação de ninfas de *A. woglumi*. (Foto: R.E. SÃO JOÃO)

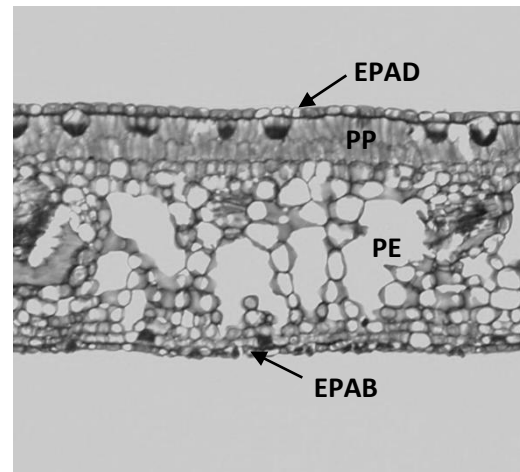


Figura 6 – Corte transversal de folha madura de lima ácida Tahiti com infestação de ninfas de *A. woglumi*. (Foto: R.E. SÃO JOÃO)

Khalil et al. (2014), observaram que tanto a epiderme superior, quanto a inferior apresentaram menor espessura em folhas de tomate infectadas por *tomato yellow leaf curl geminivirus* quando comparadas com folhas saudáveis.

Em estudo realizado por Ahmed et al. (2013), sobre as alterações anatômicas em folhas jovens de chá (*Camellia sinensis*, clone TV1) durante a alimentação pelo percevejo *Helopeltis theivora* Waterhouse (Hemiptera: Miridae), observou-se que a camada de cera sobre a epiderme foliar se tornou menos espessa na área da lesão, podendo ser resultado da liberação de uma enzima degradante pelo inseto ou por colapso das células subjacentes no ponto de alimentação.

A redução da espessura dos tecidos observada em folhas maduras infestadas por ninfas da MNC caracteriza o dano provocado por essa praga, que ao se alimentar da seiva do floema retira nutrientes e compostos provenientes da fotossíntese que seriam utilizados para manutenção e desenvolvimento do vegetal. As folhas mais maduras possuem rendimento mais baixo para o vegetal e por isso ocorre menor investimento em sua proteção,

consequentemente, a folha desenvolve pouco ou nenhum mecanismo de defesa e sofre mais com o ataque do inseto.

Folhas de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por adultos da MNC também apresentaram diferença estatística na espessura dos seus tecidos, sendo que as folhas infestadas obtiveram maior espessura em todos os tecidos avaliados: epidermes abaxial e adaxial, parênquimas paliçádico e esponjoso e, espessura total da folha (Tabela 2).

O aumento da espessura foliar se revela como um mecanismo de defesa que age diretamente sobre o inseto contribuindo com a maior dureza da folha e dificultando assim a alimentação do inseto (EDWARDS; WRATTEN, 1981; PINHEIRO et al., 1999; PEETERS, 2002; WEI et al., 2000).

Tabela 2 – Espessura dos tecidos foliares (μm) de lima ácida Tahiti, obtida em corte transversal de folhas jovens infestadas e não infestadas por adultos de *A. woglumi*.

	ET	EPAD	PP	PE	EPAB
Sem infestação	218,76 \pm 0,95b	7,86 \pm 0,08b	42,05 \pm 0,42b	157,92 \pm 0,63b	5,38 \pm 0,06b
Com infestação	261,92 \pm 1,46a	10,88 \pm 0,08a	46,35 \pm 0,35a	196,58 \pm 1,18a	6,15 \pm 0,06a
Diferença percentual	16,48%	27,76%	9,28%	19,67%	12,52%

Dentro de cada coluna, letras indicam significância estatística pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). ET = espessura total; EPDA = epiderme adaxial; PP = parênquima paliçádico; PE = parênquima esponjoso; EPAB = epiderme abaxial.

É possível observar que o tecido que sofreu maior influência pela infestação de ninfas foi a epiderme adaxial, com 27,76% de redução. Embora o adulto tenha preferência pela região inferior da folha, o maior desenvolvimento da epiderme superior pode estar relacionado a uma sobre compensação da folha, ou ainda, a alimentação do inseto na região inferior prejudicou a tentativa de resposta da planta na epiderme inferior.

O aumento da espessura dos tecidos pode ter conferido maior dureza aos mesmos dificultando a alimentação do inseto (Figuras 7 e 8). A superfície externa constitui a principal barreira contra a herbivoria, pois representa o primeiro contato do inseto com o vegetal. Dessa forma o aumento da espessura da epiderme, bem como a presença ou aumento da densidade e espessura de apêndices epidérmicos pode conferir maior resistência a planta (LARA, 1991; TURNER et al., 1995).

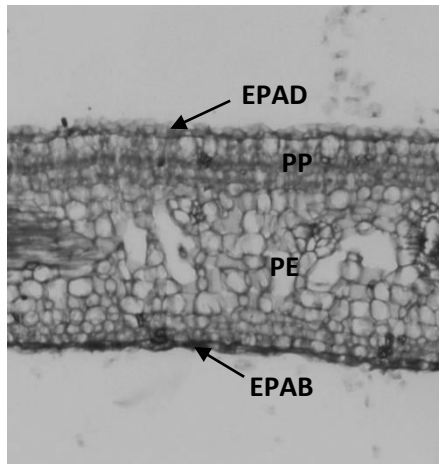


Figura 7 – Corte transversal de folha jovem de lima ácida Tahiti sem infestação de adultos (Foto: R.E. SÃO JOÃO)

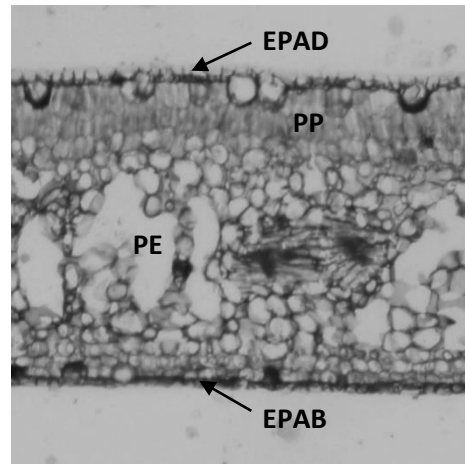


Figura 8 - Corte transversal de folha jovem de lima ácida Tahiti com infestação de adultos (Foto: R.E. SÃO JOÃO)

Os tecidos do mesofilo podem se modificar para conferir resistência a planta através da organização e características das células. Diferentes cultivares de uma mesma espécie podem apresentar diferentes densidades, compactação e espessura da parede celular do tecido parenquimático, o que proporciona diferença quanto a resistência da planta (PHIUP et al., 1991; GREWAL et al., 1999; PRABHPREET et al., 2000).

Segundo Lara (1991), nem sempre a resposta das plantas se manifesta de forma semelhante, podendo se manter em algumas condições e não em outras. Além disso, uma mesma espécie vegetal pode apresentar resistência a um determinado inseto e ser suscetível a outros.

As respostas ao ataque da MNC foram diferentes para cada tecido quando infestadas por ninfas e adultos, isso porque as ninfas infestam folhas maduras, enquanto os adultos preferem se alimentar de folhas mais jovens. O vegetal demonstra mais investimento na defesa de folhas mais jovens, que normalmente possuem uma taxa de fotossíntese mais elevada e por isso promove mais impacto no fitness da planta (GUTIERREZ; REGEV, 2005).

A alimentação de adultos e ninfas são fundamentais para o sucesso das sucessivas gerações. No caso das ninfas, o objetivo da alimentação é proporcionar o término da fase imatura, enquanto que a alimentação dos adultos visa a obtenção de nutrientes para sobrevivência e reprodução.

5.2. ANÁLISES FISIOLÓGICAS

Em folhas maduras de lima ácida Tahiti, os valores de transpiração (E) e condutância estomática (Gs) não apresentaram diferença estatística entre folhas infestadas e não infestadas. A concentração interna de CO₂ (Ci) foi maior em folhas infestadas que em folhas não infestadas e a taxa de fotossíntese (A) foi maior em folhas não infestadas que em folhas infestadas por *A. woglumi* (Tabela 3).

Tabela 3 – Medidas de trocas gasosas em folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi*.

	Ci	E	Gs	A
Infestadas	428 ± 15a	1,35 ± 0,72a	0,032 ± 0,016a	-1,21 ± 0,30b
Não infestadas	348 ± 9b	1,0 ± 0,31a	0,032 ± 0,008a	0,23 ± 0,18a

Dentro de cada coluna, letras indicam significância estatística pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). Ci = Concentração interna de CO₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$); E = Transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Gs = condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); A = Fotossíntese ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

As folhas maduras infestadas por ninfas da MNC mostraram valores negativos de fotossíntese, o que significa que apenas respiram, enquanto que as folhas não infestadas, mesmo que pouco, ainda fazem fotossíntese. Além do seu estágio de desenvolvimento, essas folhas apresentam valores mais baixos de fotossíntese que as folhas jovens provavelmente devido a sua posição na área mais interna da copa da planta, que recebe menor incidência de luz.

Oliveira et al. (2002), observaram em trabalho realizado com pupunheira, um aumento da concentração interna de CO₂ sob baixos valores de condutância estomática. Esse aumento pode estar relacionado à redução da atividade de enzimas envolvidas no processo de fixação de CO₂ (MACHADO et al., 1999). Isso pode explicar os resultados obtidos no presente trabalho. Embora a concentração interna de CO₂ tenha sido maior em folhas maduras infestadas pela MNC, a taxa de fotossíntese foi menor. Esse acúmulo de CO₂ pode estar relacionado a deficiência no processo de fixação do mesmo para fotossíntese.

Em folhas jovens de lima ácida Tahiti, a concentração interna de CO₂ não apresentou diferença estatística entre folhas infestadas e não infestadas. A taxa de transpiração

(E), a condutância estomática (Gs) e a taxa de fotossíntese (A) foram maiores em folhas não infestadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Medidas de trocas gasosas em folhas jovens de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por adultos de *A. woglumi*.

	Ci	E	Gs	A
Infestadas	324 ± 27a	2,58 ± 1,20b	0,086 ± 0,066b	1,32 ± 0,64b
Não infestadas	328 ± 11a	5,46 ± 1,74a	0,188 ± 0,025a	3,23 ± 1,05a

Dentro de cada coluna, letras indicam significância estatística pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). Ci = Concentração interna de CO₂ ($\mu\text{mol mol}^{-1}$); E = Transpiração ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Gs = condutância estomática ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); A = Fotossíntese ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Para que a fotossíntese ocorra, o CO₂ tem que se difundir do ar para os sítios de fixação nos cloroplastos por meio da condutância estomática (NIINEMETS et al., 2017). Fadini et al. (2004), trabalhando com *Tetranychus urticae* Koch, observaram que a alimentação do ácaro através da perfuração na epiderme abaxial das folhas reduziu a taxa fotossintética, em consequência dos danos causados as células do mesofilo e ao fechamento dos estômatos.

A redução da condutância estomática nas folhas infestadas por adultos da MNC possivelmente ocorreu pelo fechamento parcial dos estômatos, como forma de defesa da planta para evitar a perda de água. A redução da fotossíntese e da transpiração nessas folhas pode estar relacionada a diminuição da condutância estomática.

5.3. ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas não apresentaram diferença estatística de área foliar entre si. As medidas de massa fresca e massa seca foram menores nas folhas infestadas e assim a área foliar específica foi maior em folhas infestadas por *A. woglumi* (Tabela 5).

Tabela 5 - Medidas morfológicas de folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por ninfas de *A. woglumi*.

	AF	MF	MS	AFE
Infestadas	31,03 ± 9,36a	0,77 ± 0,18b	0,23 ± 0,08b	153,36 ± 92,12a
Não infestadas	33,77 ± 5,82a	1,00 ± 0,21a	0,38 ± 0,09a	90,95 ± 10,77b

Dentro de cada coluna, letras indicam significância estatística pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). AF = Área foliar (cm^2); MF = Massa fresca (g); MS = Massa seca (g); AFE = Área foliar específica (cm^2/g).

Os menores valores de massa fresca e massa seca encontrado em folhas infestadas evidenciam esse dano provocado pela alimentação do inseto sem que ocorra uma resposta da planta. Segundo Edwards e Wratten (1981), a redução da área total da folha assim como a perda de tecido fotossintético são fatores que prejudicam a produção de biomassa na planta, uma vez que sua capacidade fotossintética é reduzida.

A aumento da área foliar específica indica que a folha está mais fina, o que é reforçada pela observação da redução da espessura dos tecidos das folhas infestadas por ninfas da MNC. Essa redução na espessura da folha significa a presença de menos proteínas por unidade de área, dessa forma, menos fotossíntese por unidade de área, já que a principal enzima (proteína) responsável por esse processo é a Rubisco.

Em folhas jovens de lima ácida Tahiti as medidas de área foliar, massa fresca e massa seca apresentaram maiores valores em folhas infestadas pela mosca negra, enquanto que a o cálculo da área foliar específica resultou em maiores valores em plantas não infestadas (Tabela 6).

Tabela 6 - Medidas morfológicas de folhas jovens de lima ácida Tahiti infestadas e não infestadas por adultos de *A. woglumi*.

Tratamentos	AF	MF	MS	AFE
Infestadas	19,52 ± 5,73a	0,52 ± 0,12a	0,11 ± 0,03a	185,83 ± 29,48b
Não infestadas	16,55 ± 5,60b	0,44 ± 0,16b	0,08 ± 0,03b	209,75 ± 24,14a

Dentro de cada coluna, letras indicam significância estatística pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). AF = Área foliar (cm^2); MF = Massa fresca (g); MS = Massa seca (g); AFE = Área foliar específica (cm^2/g).

Esse aumento observado na área das folhas infestadas aparentemente não se caracteriza como um mecanismo de defesa direto contra o ataque da mosca negra, no entanto

surge como uma forma de compensação da folha contra os danos provocados na fotossíntese. A expansão da área foliar confere um aumento na superfície de contato da folha com o ambiente e conseqüentemente favorece a fotossíntese (COSTA et al., 2007). O aumento da massa foliar observada no presente trabalho possivelmente está relacionado ao aumento da espessura dos tecidos.

A redução da área foliar específica é uma estratégia de economia de recursos, que funciona de forma secundária como uma barreira contra a herbivoria (AGRAWAL; FISHBEIN, 2006; HANLEY et al., 2007). Essa AFE reduzida significa um aumento na produção de tecido mecânico (VENDRAMINI et al., 2002). Em estudo realizado por Silva (2017), em um gradiente ambiental de restinga as espécies com menor área foliar específica sofreram menor herbivoria.

Existem vários atributos desenvolvidos pela planta contra a herbivoria, no entanto a redução da área foliar específica em folhas jovens infestadas por adultos de *A. woglumi* parece ser um mecanismo de defesa. Tanto a resistência como a tolerância de plantas ao ataque de insetos herbívoros ocorrem em função não de um, mas de muitos traços bioquímicos, fisiológicos, morfológicos e fenológicos (TURLEY; GODFREY; JOHNSON, 2013).

6. CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos nesse trabalho, foi possível concluir que:

- O aumento da espessura dos tecidos de folhas jovens de lima ácida Tahiti pode ser um mecanismo de defesa ao ataque de adultos de *A. woglumi*, que resultou em alterações na morfologia e fotossíntese das folhas;

- Folhas maduras de lima ácida Tahiti infestadas por ninfas de *A. woglumi* sofrem alterações em sua anatomia, morfologia e fotossíntese, possivelmente devido à perda de nutrientes para o inseto e consequente redução de tecido fotossintético.

- As diferentes respostas de folhas de lima ácida Tahiti infestadas por ninfas e adultos da MNC se deram, possivelmente, devido ao diferente estágio de desenvolvimento da folha e do inseto;

7. REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. A. Induced responses to herbivory and increased plant performance. **Science**, v. 279, p. 1201-1202, 1998.
- AGRAWAL, A. A.; FISHBEIN, M. Plant defense syndromes. **Ecology**, v. 87, n. 7, p. 132-149, 2006.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. San Diego: Academic Press, 1988.
- AHMED, P. et al. Hypersensitive reaction and anatomical changes of young tea leaf (*Camellia sinensis*, clone TV1) during feeding by tea mosquito bug (*Helopeltis theivora* Waterhouse: Hemiptera: Miridae). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 2, n. 8, p. 187-195, 2013.
- AKIN, D.E.; ROBINSON, E.L. Structure of leaves and stems of arrowleaf and crimson clovers as related to in vitro digestibility. **Crop Science**, v. 22, n. 1, p. 24-29, 1982.
- ALMEIDA-CORTEZ, J. Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal. **Nogueira, RJ**, 2005.
- AMARAL, M. C. E.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A. Teor de cera foliar epicuticular de dicotiledôneas do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 8, p. 127-130, 1985.
- BATISTA, T. F. C.; RODRIGUES, R. C.; OHASHI, O. S.; SANTOS, M. M. L. S.; OLIVEIRA, F. C.; SOARES, A. C. S.; LIMA, W. G.; CASTRO, C. V. Identificação de fungos entomopatogênicos para controle da mosca negra dos citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) - praga quarentenária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., **Anais**. Belém, 2002.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio. Secretaria de Comércio Exterior – SECEX. **Base de dados ALICE-Web**. Disponível em: <http://alieweb.desenvolvimento.gov.br>.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 42, de 9 de dezembro de 2014. Excluir da Lista de Pragas Quarentenárias Presentes - (A2) o inseto *Aleurocanthus woglumi* (Mosca negra dos citros), constante do Anexo II da Instrução Normativa nº 41, de 1º de julho de 2008, alterado pela Instrução Normativa nº 59, de 18 de dezembro de 2013. **Diário Oficial da União**, Brasília, n. 239, p. 6-10, 2014. Seção 1.
- BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da produção agrícola. **Rio de Janeiro**, v. 29, n. 1, p. 1-83, 2015.
- BEGON, M.; MORTIMER, M.; THOMPSON, D. J. **Population Ecology: a unified study of animals and plants**. 3ed. Oxford: Blackwell, 1996. 246 p.

- BOEGE, K.; MARQUIS, R. J. Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 20, n. 8, p. 441-448, 2005.
- BOYER, J. S. Cell enlargement and growth-induced water potentials. **Physiologia Plantarum**, v. 73, n.2, p. 311-316, 1988.
- CAÑIZARES, A.; SANABRÍA, M.; ROJAS, E. Anatomía de la hoja de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka). **Revista UDO Agrícola**, v. 5, n. 1, p. 68-73, 2005.
- CASSINO, P.C.R.; NASCIMENTO, F. Aleirodídeos (Homoptera: Aleyrodidae) em Plantas Cítricas no Brasil: Distribuição e Identificação. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. v.28, n.1, p.75-83, 1999.
- CASTLE, W. S. Citrus root systems: their structure, function, growth, and relationship to tree performance. **Proceedings of the International Society of Citriculture 1978.**, p. 62-69, 1980.
- CHAPIN, F.S.; AUTUMN, K.; PUGNAIRE, F. Evolution of suites of traits in response to environmental. **The American Naturalist**, v. 142, n. 1, p. 78-92, 1993. Suplemento Evolutionary Responses to Environmental Stress.
- CHERRY, R.; FITZPATRICK, G. Intra-tree Dispersion of Citrus Blackfly. **Environmental Entomology**, v. 8, n. 6, p. 997-999, 1979.
- COLEY, P. D., BARONE J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Ann. Rev. Ecol. Syst.** v. 27, p. 305-335, 1996.
- CORRÊA, P. **Defesas foliares em resposta à herbivoria em espécies lenhosas de restinga, Ipojuca-PE**. 2007. 54p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. 2007.
- CORTEZ, J. A. Herbivoria e mecanismos de defesa vegetal. In: NOGUEIRA, R.J.M.C.; ARAÚJO, E.L.; WILLADINO, L. G.; CAVALCANTE, U. M. T. (Org.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife. p. 389-396. 2005.
- COSAVE. Comité de sanidad vegetal del cone sur. **Plagas cuarentenarias *Aleurocanthus woglumi***: hojas de datos sobre organismos cuarentenarios para los países miembros del COSAVE.1999.
- CRAWLEY, M. J. Plant-Herbivores Dynamics. In: CRAWLEY, M. J. (Ed.). **Plant Ecology**. Oxford: Blackwell Science, p. 401-474, 1997.
- CUNHA, M. L. A. da. **Distribuição geográfica, aspectos biológicos e controle químico da mosca negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), nas condições ambientais do Estado do Pará**. 2003.57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2003.
- DALE, J. E. The control of leaf expansion. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 39, n. 1, p. 267-295, 1988.

DOWELL R.V.; CHERRY, R.H. Detection of, and sampling procedures for, the citrus blackfly in urban southern florida. **Researches on Population Ecology**, v. 23, n. 1, p. 19-26, 1981.

DOWELL, R. V.; STEINBERG, B. Influence of host plant characteristics and nitrogen fertilization on development and survival of immature citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Horn., Aleyrodidae). **Journal of Applied Entomology**, Hamburg, v. 109, n. 1-5, p. 113-119, 1990.

EDWARDS, P. J.; WRATTEN, S. D. **Ecologia das interações entre insetos e plantas**. São Paulo: EPU/Editora da Universidade de São Paulo, 1981. 71 p.

EPPO. **Data sheets on quarantine pests: *Aleurocanthus woglumi***. Cabi: EPPO Quarantine Pest, 2008. 5 p.

FADINI, M. A. M.; LEMOS, W. P.; PALLINI, A.; VENZON, M.; MOURÃO, S. A. Herbivoria de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) induz defesa direta em morangueiro? *Neotropical Entomology*, Londrina, v. 33, n. 3, p. 293-297, 2004.

FRANCESCHINI, M. et al. Biotecnologia aplicada ao controle biológico. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.23, n. 1, p.32-37, 2001.

FRENCH, J. V.; MEAGHER, R. L. Jr. Citrus blackfly: chemical control on nursery citrus. **Subtropical plant science: journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society (USA)**, v. 45, n. 1, p. 7-10, 1992.

GATEHOUSE, J. A. Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction. **New Phytologist**, London, v. 156, n. 2, p. 145-169, 2002.

GONÇALVES, M. S. **Flutuação populacional da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) e de seus inimigos naturais em um plantio de citros, Manaus, Amazonas, Brasil**. 2013. 68 f. Dissertação (mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2013.

GOULD, F. Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: Integrating pest genetics and ecology. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 701-726, 1998.

GREWAL, R. K. et al. Role of palisade parenchyma of tomato plants in resistance to late blight pathogen. **Crop Improvement**, v.26, n. 1, p. 52-55. 1999.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. **The insects: an outline of entomology**. London: Chapman & Hall, 1998. 510 p.

GUTIERREZ, A.P.; REGEV, U. The bioeconomics of tritrophic systems: applications to invasive species. **Ecological Economics**, Amsterdam, v. 52, n. 3, p. 382-396, 2005.

HANLEY, M. E.; LAMONT, B. B.; FAIRBANK, M. M.; RAFFERTY, C. M. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defense. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 8, p. 157–178, 2007.

- HARBONE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4. ed. London: Academic Press, 1988.
- HELBSING, S.; RIEDERER, M.; ZOTZ, G. Cuticles of vascular epiphytes: efficient barriers for water loss after stomatal closure? **Annals of Botany**, Oxford, v. 86, n. 4, p. 765-769, 2000.
- HERMS, D. A.; MATTSON, W. J. The dilemma of plants: to grow or defend. **Quarterly review of biology**, Chicago, v. 67, n. 3, p. 283-335, 1992.
- HEU, R. A.; NAGAMINE, W. T. Citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae). **New pest advisory**, v. 99, n. 03, p. 1-4, 2001.
- JONES, W. W.; STEINACKER, M. L. Seasonal changes in concentrations of sugar and starch in leaves and twigs of citrus trees. In: **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**. 701 NORTH SAINT ASAPH STREET, ALEXANDRIA, VA 22314-1998: AMER SOC HORTICULTURAL SCIENCE. p. 1-4. 1951
- KARBAN, R.; BALDWIN, I.T. **Induced responses to herbivory**. Chicago University Press, Chicago, 1997.
- KHALIL, R. R. et al. A dramatic physiological and anatomical changes of tomato plants infecting with tomato yellow leaf curl geminivirus. **Journal of Agricultural Technology**, v. 10, n. 5, p. 1213-1229, 2014.
- KRIEDEMANN, P. E. Crop energetics and horticulture. **HortScience**, v. 6, p. 432-438. 1971.
- KRIEDEMANN, P. E.; BARRS, H. D. Citrus orchards. In: T. T. Kozlowski. Water deficits and plant growth ed., **New York: Academic Press**, v. 6, p. 325-417. 1981.
- LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991. 207 p.
- LIMA, C. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1940. 470 p.
- LOPES, E. B. et al. **Mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodidae) chega à Paraíba**. Lagoa Seca: EMEPA, 2009. 17p. (Relatório Técnico-Fitossanitário).
- LOPES, J.M.S. et al. Importância Econômica dos Citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**. Garça, v. 20, n. 1, 2011.
- LUCAS, P. W. et al. Mechanical defences to herbivory. **Annals of Botany**, v. 86, n. 5, p. 913-920, 2000.
- MAIA, P.S.P. **Caracterização da distribuição espacial da mosca negra dos citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915) em pomar georreferenciado para determinar um plano de amostragem sequencial**. 2008. 77p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2008.

- MACEDO, N. A. **Manual de técnicas em histologia vegetal**. Bahia: Universidade Estadual de Feira de Santana, 1997.
- MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. M. A. Teor de água no substrato de crescimento e fotossíntese em laranjeira “Valença”. **Bragantia**, v.58, p.217-226, 1999.
- MARTIN, U. Citrus blackfly control in Dominica. **Tropical Fruits Newsletter**, v. 32, n. 1, p. 3-6, 1999.
- MARTIN, J.H.; MOUNDO, L.A. An annotated chek list of the world’s whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). **Zootaxa**. v.1, n. 492, p.1-84,2007.
- MARTINEZ, N. B. Biología de la mosca prieta de los cítricos *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae) em el campo. **Agronomia Tropical**, v. 31, n. 1-6, p. 211-218, 1982.
- MCINTYRE, G. I. The role of water in the regulation of plant development. **Canadian Journal of Botany**, v. 65, n.7, p. 1287-1298, 1987.
- MEDEIROS, F. R. et al. Dinâmica populacional da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em *Citrus* spp. no município de São Luís – MA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1016 – 1021. 2009.
- MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 2, p. 71-81, 2002.
- MELLO, J. W.; MAIA, S. Mosca-negra-dos-citros. In: PINTO, A. de S.; ZACCARO, R. P. (Org.). **Produção de mudas e manejo fitossanitário dos citros**. Piracicaba: CP 2, 2008, p. 37-45.
- MOLINA, R. O.; Nunes, W. M. D. C., Gil, L. G., Rinaldi, D. A. M. D. F., Croce Filho, J., & Carvalho, R. C. Z. D. First Report of Citrus *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) in the State of Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 4, p. 472-475, 2014.
- MORAES, B. C. et al. Impacto das mudanças climáticas na ecoclimatologia de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1913 (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado do Pará. **Revista Brasileira de Metereologia**, v. 29, n. 1, p. 77-84, 2014.
- MONTES, R.M.; MONTES, S.M.N.M; RAGA, A. **Uso do silício no manejo de pragas**. São Paulo: Instituto Biológico, 2015. 13p. (Documento Técnico, 17)
- NEVES, M. F.; JANK, M. S. Perspectivas da cadeia produtiva da laranja no Brasil: a agenda 2015. **Pensa Boletim Online**, São Paulo, 2006.
- NEVES, M.F.; KALAK, R.B.; TROMBIN, V.G. **O retrato da citricultura brasileira**. São Paulo: CitrusBR. 2010. 137 p.

- NGUYEN, R.; BRAZZEL, J. R.; POUCHER, C. Population density of the citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae) and its parasites in urban Florida in 1979-1981. **Environmental Entomology**, Maryland, v.12, n.3, p.878-884, 1983.
- NGUYEN R.; HAMON A. B. **Citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae)**. Gainesville: Florida Department of Agriculture & Consumer Service – Division of Plant Industry, 1993. 3p. (Circular Técnica, 360).
- NGUYEN, R.; HAMON, A.B. **Citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae)**. Flórida: Entomology and Nematology Department, 2003. 5 p. (Boletim Técnico, 360).
- NGUYEN, R. U.; HAMON, A. B.; FASULO, T. R. **Citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae)**. Gainesville: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 2007. 5 p.
- NGUYEN, R. **A citrus blackfly parasitoid, *Amitus hesperidum* Silvestri (Insecta: Hymenoptera: Platigasteridae)**. Gainesville: University of Florida, 2008. 3p. (Circular Técnico, 243).
- NICHOLLS, C. I. **Control Biológico de Insectos Plagas: Um enfoque agroecológico**. Universidad de California, Berkeley, 2004, 282p.
- NIINEMETS, Ü.; BERRY, J. A.; CAEMMERER, S.; ORT, D. R.; PARRY, M. A.; POORTER, H. Photosynthesis: ancient, essential, complex, diverse... and in need of improvement in a changing world. **New Phytologist**, v. 213, n. 1, p. 43-47, 2017.
- OLIVEIRA, M.R.V.; SILVA, C.C.A. da; NAVIA, D.; **Praga Quarentenária A1: A mosca negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae)**. Brasília: Embrapa, 1999, 7p. (Comunicado Técnico, 40).
- OLIVEIRA, M. R. V.; SILVA, C. C. A.; NÁVIA D. **Mosca negra dos citros *Aleurocanthus woglumi*: alerta quarentenário**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2001. 12 p.
- OLIVEIRA, M. A. J. et al. Fotossíntese, condutância estomática e transpiração em pupunheira sob deficiência hídrica. **Scientia Agricola**, p. 59-63, 2002.
- ONILLON, J. C. Aspectos de la ecología de algunos aleuródidos. **Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas**, v. 3, n. 1, p. 175-198, 1977.
- PANDA, N., KHUSH, G. S. **Host plant resistance to insects**. Wallingford: CAB International, 1995.
- PANDEY, A.; KAUSHIK, A.; TIWARI, S. K. Evaluation of antimicrobial activity and phytochemical analysis of Citrus limon. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences (JPBMS)**, v. 13, n. 13, 2011.
- PANIZZI, A.R.; PARRA, J.R.P. **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. 1663 p.

- PATEL, P. S; PATEL, G. M. Population Dynamics of importante pests of citrus, *Citrus aurantifolia*, Swingle. **Indian Journal of Entomology**, v. 68, n. 3, p. 255-259, 2006.
- PATRICK, J. W. Assimilate partitioning in relation to crop productivity. **Hort Science**, v. 23, n. 1, p. 33-40, 1988.
- PEETERS, P. J. Correlations between leaf structural traits and the densities of herbivorous insect guilds. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 77, n. 1, p. 43-65, 2002.
- PENA, M. R. et al. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) no estado de São Paulo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 83, n. 1, p. 61-65, 2008.
- PHIUP, T. et al. Anatomical nature of resistance in mulberry genotypes against *Cerotelium lid* causing leaf rust. **Indian Phytopathology**, v.44, n.2, p. 249-251, 1991.
- PINHEIRO, M. M. et al. A defesa das plantas contra as doenças. **Ciência Hoje**, v. 147, p. 26-31, 1999.
- PIZZAMILGIO-GUTIERREZ, M. A. Interações inseto-planta. In: PANIZZI, R. A.; PARRA, J. R. P. (Eds.). Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. **EMBRAPA**, Brasília, p. 211-249, 2009.
- POSSINGHAM, J. V.; COOTE, M.; HAWKER, J. S. The plastids and pigments of fresh and dried Chinese gooseberries (*Actinidia chinensis*). **Annals of botany**, v. 45, n. 5, p. 529-533, 1980.
- PRABHPREET, I. et al. Mesophyll characteristics of muskmelon leaf in relation to resistance/susceptibility to downy mildew. **Plant Disease Research**, v. 15, n.1, p. 18-23. 2000.
- RAGA, A.; COSTA, V. A. **Mosca negra dos citros**. São Paulo: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, 2008. 9 p. (Documento Técnico, 001).
- RAGA, A. et al. Novos registros de Aleyrodidae (Hemíptera) no Estado de Roraima, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.78, n.3, p.439-441, 2011.
- RAGA, A. et al. Mosca Negra dos Citros. **Citrus Research & Technology**. Cordeirópolis, v. 34, n. 2, p. 57-63, 2013.
- RAGA, A.; FELIPPE, N.; IMPERATO, R. Population Dynamic of Citrus Blackfly, *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae), in Tahiti Lime in the eastern of the State of São Paulo, Brazil. **Annual Research & Review in Biology**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2016.
- RONCHI-TELES, B., PENA, M.R., SILVA, N.M. Observações sobre a ocorrência de mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) no estado do Amazonas. **Acta Amazonica**. v. 39, n. 01, p. 241-244, 2009.

SALDANHA, C. B. **Aleurocanthus woglumi** Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae): **flutuação populacional, distribuição espacial e levantamento de inimigos naturais**. 2016. 65p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Biológico, São Paulo, 2016.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M. O. et al. (Ed.). **Farmacognisia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFSC/UFSC, p. 403-434. 2004.

SANTOS, C. M. A. toxicidade dos agrotóxicos usados na lavoura de soja na cidade de Catalão - GO, e seus impactos no ambiente – um estudo de caso. **Revista Acadêmica do Instituto de Ciências Jurídicas**, v. 1, n. 1, p. 58-76, 2014.

SARGERS, C. L.; COLEY, P. D. Benefits and costs of plant defense in a Neotropical shrub. **Ecology**, v. 76, n. 6, p. 1835-1843. 1995.

SILVA, A.B. **A mosca negra dos citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby, praga potencial para os citros**. Belém: MAPA, 2001. 29p. (Relatório Técnico).

SILVA, A. B. Mosca negra dos citros, (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) uma praga potencial para a citricultura brasileira. In: POLTRONIERI, L. S.; TRINDADE, D. R.; SANTOS, I. P. **Pragas e doenças de cultivos amazônicos**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005. p. 147-156.

SILVA, M. M. **Padrões de herbivoria e mecanismos de defesas em espécies de restinga**. 2017. 97p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

STILING, P. **Ecology: Theories and Applications**. Upper Saddle River: Prentice- Hall, 1999.

THOMAZINI, M.J.; THOMAZINI, A.P.B. W. **A fragmentação florestal e a diversidade de insetos nas florestas tropicais úmidas**. Rio Branco: Embrapa Acre, 2000. 21 p. (Documento Técnico, 57).

THOMPSON, G.A.; GOGGIN, F.L. Transcriptomics and functional genomics of plant defense induction by phloem-feeding insects. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 57, n. 4, p. 755-766, 2006.

TURLEY, N. E.; GODFREY, R. M.; JOHNSON, M. T. J. Evolution of mixed strategies of plant defense against herbivores. **New Phytologist**, v. 197, n. 2, p. 359-361, 2013.

TURNER, I.M.; ONG, B.L.; TAN, H.Y.W. Vegetation analysis, leaf structure and nutrient status of a Malasian heath community. **Biotropica**, v. 27, n. 1, p. 1-12. 1995.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. *PSD Online*. Washington. Recuperado em 21 de fevereiro de 2017, de <http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>. 2015.

VENDRAMINI, F.; DÍAZ, S.; GURVICH, D. E.; WILSON, P. J.; THOMPSON; HODGSON, J. G. Leaf traits as indicators of resource-use strategy in floras with succulent species. **New Phytologist**, v. 154, p. 147–157, 2002.

VIEIRA, D. L. et al. Population fluctuation and spatial dependence of *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae) on *Citrus latifolia*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 4, p. 862-871, 2014.

WEI, J. et al. Influence of leaf tissue structure on host feeding selection by pea leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). **Zoological Studies**, v. 39, n. 4, p. 295-300. 2000.

ZULIAN, A.; DÖRR, A. C.; ALMEIDA, S. C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 11, n. 11. p. 2290-2306, 2013.