

**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**

Diversidade de aleirodídeos, cochonilhas (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea) e de parasitoides (Hymenoptera) da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) e efeitos das etapas de beneficiamento pós-colheita em lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tanaka) no Estado de São Paulo

Renata Imperato Guido

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

**São Paulo
2019**

Renata Imperato Guido

Diversidade de aleirodídeos, cochonilhas (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea), parasitoides (Hymenoptera) da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) e efeitos das etapas de beneficiamento pós-colheita em lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tanaka) no Estado de São Paulo

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

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Orientador: Dr. Adalton Raga

Co-orientadora: Dra. Eliane Aparecida Benato Rodrigues da Silva

São Paulo
2019

FOLHA DE APROVAÇÃO

Renata Imperato Guido

Título: Diversidade de aleirodídeos, cochonilhas (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea) e de parasitoides (Hymenoptera) da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) e efeitos das etapas de beneficiamento pós-colheita em lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tanaka) no Estado de São Paulo.

Tese 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 Doutor em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Assinatura:
Prof. Dr. Adalton Raga
Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:
Prof. Dr.
Instituição:

Assinatura:
Prof. Dr.
Instituição:

Assinatura:
Prof. Dr.
Instituição:

Assinatura:
Prof. Dr.
Instituição

Eu **Renata Imperato Guido**, 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

Guido, Renata Imperato.

Diversidade de aleirodídeos, cochonilhas (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea) e de parasitoides (Hymenoptera) da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) e efeitos das etapas de beneficiamento pós-colheita em lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tanaka) no Estado de São Paulo. / Renata Imperato Guido. - São Paulo, 2019.

87 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2019T.RG001

Tese (Doutorado). 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: Diversity of Aleyrodidae, Scale insects (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea) and parasitoids (Hymenoptera) of blackfly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) and effect of the processing steps of post-harvest diseases in 'Tahiti' Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) in São Paulo State.

1. Citros 2. Controle biológico 3. Insetos fitófagos 4. Fungo patogênico I.
Guido, Renata Imperato II. Raga, Adalton III. Instituto Biológico (São Paulo)
IV. Título.

IB/Bibl./2019/001

À Deus,
Meus pais Rinaldo e Solange,
Meu marido Leandro,
Meus irmãos Bruno e Júlia,
Minha família,
Aos produtores de citros do Brasil
que apesar das dificuldades não
desistem.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, família, amigos, conquistas, bênçãos e coragem.

Agradeço a todos que colaboraram para a execução desse trabalho, em particular:

Ao meu orientador Prof. Dr. Adalton Raga, pela orientação, paciência, compreensão, ensinamentos, oportunidade e confiança.

Ao Dr. Valmir Antonio Costa, pela dedicação e inestimável ajuda na identificação dos parasitoides.

A Dra. Eliane A. R. Benato pela paciência, ensinamentos e oportunidade.

Ao Dr. Ricardo Harakava pelas identificações moleculares.

A Dra. Vera Regina dos Santos Wolf pelas identificações das cochonilhas.

A empresa Andrade Sun Farms Agrocomercial pela disposição, contribuição e parceria.

A família Andrade e todos os funcionários da empresa pela confiança, oportunidade, amizade, paciência e aprendizado.

Aos meus pais Rinaldo e Solange, meu marido Leandro e meus irmãos Bruno e Júlia, pela paciência, amor, apoio, incentivo, companheirismo e por estarem comigo em todas as horas.

Aos amigos Fernando Baldo e Cristina Queiroz pela amizade, ajuda, incentivo, almoços e “brainstorm”.

Aos colegas do Laboratório de Entomologia e do Laboratório de Controle Biológico pelo apoio e auxílio.

Aos colegas do Laboratório de Fitopatologia do IAC, Gabriela, Marina, Barbara e Thalita pela ajuda e disposição. A Dra. Silvia R. T. Valentini e Juliana Sanches pela disponibilidade e ajuda.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

Ao Instituto Biológico por possibilitar a realização desse projeto.

“Para nós os grandes homens não são
aqueles que resolveram os problemas,
mas aqueles que os descobriram”

(Albert Schweitzer)

RESUMO

IMPERATO, R. **Diversidade de aleirodídeos, cochonilhas (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea) e de parasitoides (Hymenoptera) da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) e efeitos das etapas de beneficiamento pós-colheita em lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tanaka) no Estado de São Paulo.** São Paulo, 2019. Tese (Doutorado em Sanidade Animal, Vegetal e Segurança Alimentar no Agronegócio) – Instituto Biológico.

O Brasil é o maior produtor mundial de citros, sendo também o segundo maior produtor e segundo maior exportador de lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tanaka). O Estado de São Paulo é o maior exportador dessa fruta fresca. O conhecimento sobre plantas hospedeiras e a distribuição geográfica dos aleirodídeos e cochonilhas ainda é pequeno, sendo a maioria das informações disponíveis referentes a poucas espécies que provocam danos econômicos. A falta de conhecimento sobre a diversidade de hospedeiros e sua dinâmica populacional dificulta o manejo de pragas. O presente estudo teve como objetivo gerar e difundir o conhecimento sobre esses insetos, através da atualização das espécies de aleirodídeos, identificação de parasitoides, visando ao incremento das ações de manejo e sustentabilidade na cadeia da lima ácida Tahiti. Além disso, objetivou-se identificar as principais causas de perdas em pós-colheita dessa fruta. No período de junho de 2015 a junho de 2017, foram coletadas quinzenalmente, em dois pomares de limão ‘Tahiti’, 240 folhas infestadas por aleirodídeos e cochonilhas. As folhas infestadas foram imediatamente transportadas ao laboratório e os insetos avaliados e identificados. As pupas dos parasitoides recuperados foram acondicionadas em microtubos plásticos de 2mL e mantidas em sala climatizada por até 30 dias para emergência dos adultos. Das 51 coletas realizadas nas duas áreas de lima ácida Tahiti obteve-se um total de 256.976 insetos. Foram recuperadas quatro espécies de aleirodídeos e 21 espécies de cochonilhas. Nas duas áreas estudadas, o inseto fitófago de maior ocorrência foi *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae), totalizando 174.133 espécimens (67,76%) e apresentando maior incidência nos meses de abril e outubro. Quatro morfoespécies de *Encarsia*, parasitoides da mosca-negra-dos-citros, foram determinadas, sendo duas delas geneticamente idênticas. Foram realizados testes físicos, químicos e avaliações visuais de frutos de lima ácida ‘Tahiti’ após 30 dias de armazenamento, onde foi possível verificar interferência negativa do processo de beneficiamento de frutos de lima ácida ‘Tahiti’. Os frutos que passaram por beneficiamento completo apresentaram maiores perdas por incidência de distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita. *Phomopsis citri* e *Penicillium* spp. foram os fungos patogênicos mais importantes em

pós-colheita de lima ácida Tahiti. Os frutos que passaram pelo beneficiamento completo apresentaram redução significativa na porcentagem de ácido cítrico.

Palavras- chave: citros, limão Tahiti, controle biológico, insetos fitófagos, fungo patogênico

ABSTRACT

IMPERATO, R. **Diversity of Aleyrodidae, Scale insects (Hemiptera: Aleyrodoidea, Coccoidea) and parasitoids (Hymenoptera) of blackfly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) (Hemiptera: Aleyrodoidea) and effect of the processing steps of post-harvest diseases in 'Tahiti' Lime (*Citrus latifolia* Tanaka) in São Paulo State.** São Paulo, 2019. Tese (Doutorado em Sanidade Animal, Vegetal e Segurança Alimentar no Agronegócio) – Instituto Biológico

Brazil is the world's largest producer of citrus, and is also the second largest producer and second largest exporter of 'Tahiti' lime (*Citrus latifolia* Tanaka). This variety is the most exported fresh fruit from the state of São Paulo. The knowledge about host plants and the geographic distribution of aleyrodids and scale insects is still small, with most of the information available concerning few species that cause economic damages. The lack of knowledge about host diversity and its population dynamics difficult the pest management. The aims of this study were to generate and disseminate knowledge about these insects through the updating of the species of aleirodóideos, identify parasitoids, aiming to increase the management and sustainability actions in the chain of the Tahiti acid file. Besides we aim to identify the main causes of post-harvest losses for this fruit. From June 2015 to June 2017, a total of 240 leaves infested by aleyrodids and scales was collected every two weeks under two 'Tahiti' lemon orchards. The infested leaves were immediately transported to the laboratory and the insects evaluated and identified. The pupae of the recovered parasitoids were conditioned in 2 mL plastic microtubes and kept under air conditioned room for up to 30 days for adult emergence. Of the 51 collections made in the two areas of acidic Tahiti, 256,976 insects were obtained. Four species of aleyrodids and 21 species of scale were recovered. In both studied areas, the most frequent phytophagous insect was *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae), totaling 174,133 specimens (67.76%) and showing a higher incidence in the months of April and October. Four morphospecies of *Encarsia* were determined, two of them genetically identical. Physical, chemical and visual evaluations of 'Tahiti' acidic fruits were performed after 30 days of storage. Fruits submitted to complete processing in post-harvest period exhibited higher losses due to the incidence of physiological disorders and post-harvest diseases. *Phomopsis citri* and *Penicillium* spp. were the most important pathogenic fungi in Tahiti acidic in post-harvest period. Fruits from the complete processing showed a significant reduction in the percentage of citric acid.

Keywords: citrus, Tahiti lime, biological control, phytophagous insects, pathogenic fungi

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Talhão comercial de lima ácida ‘Tahiti’ orgânico (área 1) localizado no município de Mogi Mirim/SP. (Fonte: Google Earth).....	37
Figura 2. Talhão comercial de lima ácida Tahiti em transição para orgânico (área 2) no município de Mogi Mirim/SP. (Fonte: Google Earth).....	37
Figura 3. Folha de lima ácida ‘Tahiti’ (<i>C. latifolia</i>) infestada por insetos fitófagos coletada em pomar comercial no município de Mogi-Mirim, São Paulo. Foto: Imperato, R.....	38
Figura 4. A - Pupa de himenóptero parasitoide parasitando ninfa de quarto ínstar de mosca-negra-dos-citros (<i>A. woglumi</i>) recuperada em folha de lima ácida ‘Tahiti’ de pomar comercial no município de Mogi-Mirim. (Foto: V.A.Costa). B – Pupa de himenóptero parasitoide parasitando ninfa de quarto ínstar de mosca-negra-dos-citros (<i>A. woglumi</i>) (superior) e ninfa de quarto ínstar de mosca-negra-dos-citros não parasitada (inferior) recuperadas em folha de lima ácida ‘Tahiti’ de pomar comercial no município de Mogi-Mirim (Foto: Imperato, R.); C – Pupa de himenóptero parasitando ninfa de mosca branca em folha de limão ‘Tahiti’ de pomar comercial no município de Mogi-Mirim (Foto: Imperato, R.).....	40
Figura 5. Refratômetro portátil utilizado para determinação do teor de sólidos solúveis de lima ácida ‘Tahiti’, Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônômico de Campinas (IAC).....	45
Figura 6. Medidor de pH utilizado para determinação do pH de lima ácida ‘Tahiti’, Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônômico de Campinas (IAC).....	45
Figura 7. Balança digital utilizada para pesagem dos frutos e massa do suco de lima ácida ‘Tahiti, Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônômico de Campinas (IAC).....	46
Figura 8. Paquímetro digital utilizado para medição do diâmetro de lima ácida ‘Tahiti’ provenientes dos municípios de Jales, Itajobi e Mogi-Mirim, São Paulo, no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônômico de Campinas (IAC).....	46
Figura 9. Colorímetro utilizado para determinação de L, a, b em lima ácida ‘Tahiti’, Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônômico de Campinas (IAC).....	46
Figura 10 - Total de insetos fitófagos (aleirodídeos e cochonilhas) recuperados na Área 01 - pomar comercial de lima ácida ‘Tahiti’ (<i>C. latifolia</i>), município de Mogi-Mirim, São Paulo, junho de 2015 a junho de 2017.....	48
Figura 11 - Total de insetos fitófagos (aleirodídeos e cochonilhas) recuperados na Área 02 - pomar comercial de lima ácida ‘Tahiti’ (<i>C. latifolia</i>), município de Mogi-Mirim, São Paulo, junho de 2015 a junho de 2017.....	49

Figura 12 - A- <i>Chrysomphalus aonidium</i> recuperado de folha de lima ácida ‘Tahiti’ em pomar localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo, em coletas realizadas entre junho de 2015 e junho de 2017 (Foto: Imperato, R.). B – <i>Ceroplastes</i> spp. recuperado de folha de lima ácida ‘Tahiti’ em pomar localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo, em coletas realizadas entre junho de 2015 e junho de 2017 (Foto: Imperato, R.). C – <i>Praelongorthezia praelonga</i> recuperada de folha de lima ácida ‘Tahiti’ em pomar localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo, em coletas realizadas entre junho de 2015 e junho de 2017 (Foto: Imperato, R.). D – Macho de <i>Orthezia praelonga</i> recuperado de folha de lima ácida ‘Tahiti’ em pomar localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo, em coletas realizadas entre junho de 2015 e junho de 2017 (Foto: Imperato, R.). E – <i>Parlatoria ziziphi</i> recuperado de folha de lima ácida ‘Tahiti’ em pomar localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo, em coletas realizadas entre junho de 2015 e junho de 2017 (Foto: Imperato, R.).....	52
Figura 13 - Períodos de maior ocorrência da mosca-negra-dos-citros (<i>A. woglumi</i>) em pomar orgânico (Área 01) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017.....	53
Figura 14 - Períodos de maior ocorrência da mosca-negra-dos-citros (<i>A. woglumi</i>) em pomar em transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017.....	54
Figura 15 - Períodos de maior ocorrência da da mosca branca <i>Paraleyrodes</i> spp. em pomar em orgânico (Área 01) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017.....	56
Figura 16 - Períodos de maior ocorrência da da mosca branca <i>Paraleyrodes</i> spp. em pomar em transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017, correlacionados com as médias mensais das variáveis climáticas temperatura (°C) e precipitação (mm).....	57
Figura 17 - Períodos de maior ocorrência da <i>Parlatoria ziziphi</i> . em pomar orgânico (Área 01) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017.....	59
Figura 18 - Períodos de maior ocorrência da <i>Parlatoria ziziphi</i> . em pomar em transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017.....	60
Figura 19 - Períodos de maior ocorrência da <i>Praelongorthezia praelonga</i> . em pomar em orgânico (Área 01) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017.....	62

Figura 20. Períodos de maior ocorrência da *Praelongorthezia praelonga*. em pomar em transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’ localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017..... 63

Figura 21. Frutas de lima ácida ‘Tahiti’ provenientes de pomar comercial da região de Mogi-Mirim, São Paulo, após 33 dias de armazenamento a $8-10\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR, onde, A – Etapa 07; B – Etapa 06; C – Etapa 05; D – Etapa 04; E- Etapa 03 e F – Etapa 02..... 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Caracterização inicial (0 dias) dos teores de sólidos solúveis (SS), acidez total (AT), perda de massa (%), porcentagem de suco (%), pH e índice de cor (IC) dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’ coletados entre agosto e outubro de 2018, provenientes de três regiões distintas do estado de São Paulo (Lote 1 = Jales; Lote 2 = Itajobi e Lote 3 = Mogi-mirim), coletados nas etapas 06 e 07 do processo de beneficiamento dos frutos no <i>packinghouse</i>	50
Tabela 2. Teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), perda de massa (%), suco (%), pH e índice de coloração (IC) de limas ácidas ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita após 33 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	51
Tabela 3. Incidência (%) de distúrbios fisiológicos em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em <i>packinghouse</i> , após 07 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	67
Tabela 4. Incidência (%) de distúrbios fisiológicos em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em <i>packinghouse</i> , após 30 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	70
Tabela 5. Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em <i>packinghouse</i> , após 07 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	72
Tabela 6. Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em <i>packinghouse</i> , após 30 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	72
Tabela 7. Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em <i>packinghouse</i> , após 07 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	74
Tabela 8. Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em <i>packinghouse</i> , após 30 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).....	74

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1. Objetivos Específicos.....	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
3.1. Produção e Comercialização de Citros.....	22
3.2. Panorama geral da Lima ácida Tahiti.....	23
3.3. Insetos sugadores não vetores de doenças.....	24
3.3.1. Aleirodídeos na Citricultura.....	24
3.3.2. Cochonilhas na Citricultura.....	26
3.3.3. Controle biológico de aleirodídeos e cochonilhas.....	28
3.3.4. Gênero <i>Encarsia</i> (Hymenoptera: Aphelinidae): características morfológicas e identificação molecular.....	29
3.4. Aspectos pré e pós-colheita: colheita, beneficiamento, qualidade e conservação da lima ácida ‘Tahiti’ para exportação.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1. Localização do experimento.....	36
4.2. Obtenção de aleirodídeos e cochonilhas	38
4.3. Diversidade populacional de aleirodídeos e cochonilhas.....	39
4.4. Determinação do índice de parasitismo de insetos fitófagos nas duas áreas de lima ácida ‘Tahiti’ e obtenção de parasitoides de aleirodídeos.....	39
4.5. Caracterização morfológica das espécies de <i>Encarsia</i>	40
4.6. Análise molecular dos parasitoides.....	40
4.6.1. Preparo do material.....	40
4.6.2. Extração do DNA.....	41
4.6.3. Amplificação da região D2 do 28S rDNA e COI.....	41
4.6.4. Alinhamento das sequências.....	42

4.7. Mapeamento dos pontos críticos de contaminação em pós-colheita e incidência de distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita.....	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1. Insetos fitófagos e parasitoides associados.....	47
5.1.1. Avaliação de dois insetos fitófagos.....	47
5.1.2. Diversidade populacional.....	48
5.1.2.1. Índice de Shannon-Weaver.....	48
5.1.2.2. Diversidade populacional de aleirodídeos.....	50
5.1.2.3. Diversidade populacional de cochonilhas.....	50
5.2. Flutuação populacional.....	52
5.2.1. Aleirodídeos.....	52
5.2.2. Cochonilhas.....	58
5.3. Índice de parasitismo.....	64
5.4. Diversidade de parasitoides.....	65
5.4.1. Caracterização morfológica das morfoespécies de <i>Encarsia</i>	65
5.4.2. Análise molecular de <i>Encarsia</i>	66
5.5. Avaliação das etapas de beneficiamento pós-colheita relacionadas as mudanças na qualidade dos frutos, incidência de distúrbios fisiológicos e ocorrência de doenças pós-colheita.....	67
6. CONCLUSÕES	76
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de citros, sendo o maior exportador de suco concentrado congelado de laranja, cujo valor das exportações, juntamente com as de outros derivados, tem gerado cerca de 1,5 bilhão de dólares anuais. A citricultura brasileira tem se destacado por contribuir na manutenção de mão de obra direta e indireta na área rural, gerando cerca de 500 mil empregos no Estado de São Paulo. Em 2010, o Estado de São Paulo, teve uma participação de 95% no valor das exportações brasileiras de suco concentrado de citros, correspondendo a 53% do mercado mundial de suco de laranja (LOPES et al., 2011).

A lima ácida ‘Tahiti’ (*Citrus latifolia* Tanaka) é popularmente conhecida no Brasil como limão ‘Tahiti’. Devido ao aumento no consumo dessa fruta no mercado interno e externo, vem constituindo uma importante atividade econômica na citricultura brasileira.

No ranking da produção mundial de lima ácida ‘Tahiti’, o Brasil é o segundo maior produtor e exportador dessa fruta. Em 2015 foram produzidas 1.180.271 toneladas da fruta. O principal estado produtor é São Paulo, com produção de 759 mil toneladas, responsável por 64,35% da produção brasileira, com os polos produtivos situados nas regiões de Catanduva, Itajobi, Taquaritinga e Urupês. No primeiro semestre do 2016 o Brasil exportou 60.968 toneladas, 4,4% a mais do que no mesmo período de 2015. Com embarques concentrados nos países da União Europeia, Holanda é hoje o maior comprador, adquirindo 60% dos embarques de lima ácida ‘Tahiti’ do Brasil (IBGE, 2016; IBRAF 2016).

Devido ao grande potencial do país na área da citricultura e para manter a liderança do setor, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) investe no apoio de adoção de sistemas mais eficientes, como por exemplo a produção integrada, composta por medidas para reduzir os custos, aperfeiçoar e ampliar a comercialização do produto. Esse sistema, denominado de Produção Integrada de Frutas (PIF), prevê o emprego de normas de sustentabilidade ambiental, segurança alimentar, viabilidade econômica e justiça social, mediante o uso de tecnologias não agressivas ao meio ambiente (MARQUES, 2007). O MAPA mantém ainda, ações de fiscalização e prevenção de pragas e doenças (MAPA, 2013).

O conhecimento sobre as espécies dos insetos fitófagos associados as plantas cítricas possibilita o incremento das ações de manejo e sustentabilidade, além do planejamento e implantação de programas de controle biológico. O incremento do controle biológico dos insetos fitófagos traria benefícios à cadeia produtiva dos citros, através da universalização do uso do conhecimento, independentemente do nível tecnológico dos produtores.

A cultura dos citros abriga vasta diversidade de artrópodos relativamente inócuos que, ocasionalmente, podem vir a se tornarem pragas sobre circunstâncias incomuns (PEDIGO; BUNTIN, 1994).

Portanto, conhecendo as espécies de cochonilhas e aleirodídeos que atacam o citros e seus respectivos parasitoides, é possível viabilizar o uso estratégico do controle biológico, especialmente em pragas exóticas, cuja introdução acarreta prejuízos à produção e restrições na comercialização.

O uso de sistemas que visam o equilíbrio dos ecossistemas e uso racional dos recursos naturais, contribuem para a qualidade pós-colheita dos produtos. Ao contrário, quando expostos à doenças e pragas na produção, os produtos deterioram mais rapidamente no pós-colheita. Medidas como destruição de material vegetal contaminado, espaçamento adequado, adubação balanceada em nutrientes, reduzem o ataque de pragas e doenças, aumentando a qualidade e o período de conservação pós-colheita dos mesmos (CENCI, 2006).

Além das perdas no campo pela incidência das pragas, para garantir uma comercialização rentável da lima ácida ‘Tahiti’, os atributos de qualidade devem ser mantidos, sendo esses: forma, brilho, tamanho, sabor, valor nutricional, segurança alimentar, coloração verde e turgescência (GAYET; SALVO FILHO, 2003).

O processo de beneficiamento na pós-colheita visa manter por mais tempo características das frutas provenientes do campo. No entanto, mesmo após o processo de beneficiamento, produtores e exportadores de lima ácida ‘Tahiti’ têm enfrentado diversos problemas de perda de qualidade da fruta durante o transporte, beneficiamento, armazenamento e comercialização. Sendo as principais fontes de perdas as injúrias mecânicas, distúrbios fisiológicos e ocorrência de podridões (VILAS BOAS, 2000; BASSAN et al., 2016).

Segundo Vigneault et al. (2002), as perdas pós-colheita dos produtos hortícolas variam de 20-25% do total colhido, valores esses dependentes da sensibilidade do produto. São escassas a quantificação dos danos (redução na qualidade) e das perdas (prejuízo econômico) provocados por injúrias pós-colheita em frutos ao longo da cadeia produtiva (BASSAN et al., 2016; BASSETO, 2006).

Sendo assim, devido à importância econômica do limão ‘Tahiti’ para o Brasil e por serem raras as publicações sobre pragas e danos pós-colheita nessa cultura, o conhecimento sobre as espécies fitófagas e principais danos pós-colheita na produção de lima ácida ‘Tahiti’, desde a produção até o consumidor final, identificará suas limitações, gerando informações a serem aplicadas para otimização de todo o processo. Frutas de melhor qualidade permite ao

produtor maior garantia de comercialização da produção, seja no mercado interno quanto na exportação.

2. OBJETIVO

Gerar e difundir conhecimento sobre as espécies pragas de aleirodídeos e cochonilhas (Hemiptera: Sternorrhyncha) e de parasitoides que atuam no controle biológico natural, além de identificar as principais causas de perdas pós-colheita de lima ácida Tahiti.

2.1. Objetivos específicos

- Levantar a diversidade de aleirodídeos e cochonilhas associada a lima ácida ‘Tahiti’ em dois pomares na região de Mogi Mirim (SP);
- Comparar a diversidade de aleirodídeos associada a lima ácida ‘Tahiti’ entre pomar orgânico e sob transição;
- Comparar a diversidade de cochonilhas associadas a lima ácida ‘Tahiti’ entre pomares orgânico e sob transição;
- Determinar a diversidade de espécies de *Encarsia* (Hymenoptera) associada a mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi*);
- Determinar o índice de parasitismo dos insetos fitófagos recuperados em lima ácida ‘Tahiti’ e possível diferença entre o pomar orgânico e sob transição;
- Caracterizar morfológicamente os parasitoides de mosca-negra-dos-citros;
- Caracterizar as espécies de *Encarsia*, com base nas análises moleculares, por meio das regiões COI e ITS2 do rDNA e 28S rDNA D2;
- Mapear os pontos críticos na linha de beneficiamento dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’, principalmente com relação as características físicas e químicas da fruta, além de quantificar e identificar os distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Produção e Comercialização de Citros

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o estado de São Paulo possui aproximadamente 10.100 citricultores, cujos pomares totalizam 170,6 milhões de plantas em produção, distribuídas em 464,4 mil hectares. Houve uma queda de 38% no número de citricultores paulistas desde 2010, sendo que a redução acentuada ocorreu entre outubro de 2011 e novembro de 2013, devido às dificuldades do setor (CONAB, 2014).

No ranking da produção mundial, o Brasil é o maior produtor de citros, sendo também o segundo maior produtor e segundo maior exportador de lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), conhecida popularmente como limão ‘Tahiti’. O país tem potencial para se tornar o primeiro produtor e exportador. A produção da fruta em 2015 foi de 1.180.271 toneladas (IBGE, 2016). O principal estado produtor é São Paulo, com produção de 759 mil toneladas, responsável por 64,35% da produção brasileira, com os polos produtivos situados nas regiões de Catanduva, Itajobi, Taquaritinga e Urupês com produções anuais de 95, 56 e 40 mil toneladas, respectivamente (IBGE, 2011).

A Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP) é responsável pelo maior volume de frutas comercializadas no mercado interno brasileiro. Em 2009, o volume comercializado da fruta no CEAGESP foi em torno de 81 mil toneladas, tendo sido de outubro a março o período de maior oferta da fruta, com 7,2 mil toneladas por mês (AGRIANUAL, 2011).

O estado de São Paulo também se destaca em relação à exportação, sendo responsável por 78% das exportações brasileiras da fruta, tornando a lima ácida ‘Tahiti’ a segunda fruta mais exportada do país, ficando atrás apenas da exportação de melões. Para o ano de 2017, entre janeiro e outubro, a receita gerada com a exportação de lima ácida ‘Tahiti’ foi de US\$ 70 milhões de dólares (LOPES et al., 2011; SECEX, 2016; IBGE, 2016).

Os principais mercados consumidores de lima ácida ‘Tahiti’ são os pertencentes ao bloco da União Europeia. Os países baixos, em 2010, representaram 67% do volume total das exportações da fruta do Brasil. O Reino Unido, Espanha e Alemanha representaram o volume de exportação de 17%, 4,6% e 3%, respectivamente (BRASIL, 2011).

Embora ocupe o segundo lugar como maior produtor de lima ácida ‘Tahiti’, segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA), em 2011 o volume exportado

foi de apenas 6,6% do total produzido. Tal aspecto é explicado devido à dificuldade de expansão do mercado, à grande oferta no período de safra e às exigências de qualidade dos países importadores (BASSAN et al., 2016; FNP, 2009).

Apesar da grande importância da citricultura para o agronegócio brasileiro, este setor tem sido prejudicado pelo alto custo de insumos e aumento da incidência de pragas e doenças. A falta de conhecimento e tecnologia para controle das espécies de pragas e doenças associadas aos citros, tem acarretado baixa produtividade na citricultura nacional (CASSINO; RODRIGUES, 2005; MEDEIROS et al., 2009).

No Estado de São Paulo, a produção convencional de citros apresenta menor investimento em adubação (33%) em relação aos defensivos agrícolas (41%), tornando a ocorrência de pragas um fator gerador de altos custos na citricultura. Por outro lado, a citricultura abriga uma diversidade considerável de inimigos naturais, pouco conhecida nas diversas regiões produtoras (PARRA et al., 2002; GRAVENA, 2005).

3.2. Panorama Geral da Lima Ácida ‘Tahiti’

A lima ácida Tahiti, conhecida como limão ‘Tahiti’, pertence à família Rutaceae, gênero *Citrus* e espécie *C. latifolia*. Também conhecida como limão ‘Tahiti’, o seu cultivo surgiu em 1875 na Califórnia (EUA). Sem origem exata conhecida, acredita-se que seja proveniente de sementes de frutos cítricos importados do Tahiti (CAMPBELL, s.d.; COELHO, 1993). No Brasil, a produção de lima ácida Tahiti foi impulsionada a partir da década de 70, graças ao trabalho da pesquisa, assistência técnica e crédito agrícola que estimulou a expansão da área cultivada.

De folhagem verde e densa, as folhas são de tamanho médio, lanceoladas e com pecíolos alados. A planta é de tamanho médio a grande, vigorosa e quase sem espinhos. O florescimento ocorre quase o ano todo, principalmente nos meses de setembro e outubro, florescimento esse podendo ser associado a alta taxa de crescimento das limeiras ácidas em temperaturas entre 25 a 31°C. As flores apresentam cinco pétalas. Os frutos são ovalados, com ápice redondo e base arredondada; sementes raras ou ausentes, resultado da ausência de pólen viável e natureza triploide. O amadurecimento dos frutos ocorre em 120 dias após a florada, apresenta eixo pequeno e sólido e polpa de cor amarelo-esverdeada (COELHO, 1993; LUCHETTI et al., 2003; CARON, 2009).

Os frutos pesam entre 70 e 100g, com 50% da massa do fruto representada por suco, 9º Brix de sólidos solúveis, acidez titulável de 6% e o teor de ácido ascórbico varia entre 20 a 40 mg/100ml (LUCHETTI et al., 2003; CARON, 2009).

A produtividade é dependente da idade, condições ambientais, espaçamento, porta-enxerto e tratos culturais. Gayet (1991) observou que plantas a partir de sete anos podem produzir até 177 kg de frutos, sendo que o início da produção ocorre no terceiro ano da planta. O maior volume se destina ao consumo *in natura*, que representa cerca de 90% da produção (CARON, 2009; VILELA, 2017).

Os porta-enxertos mais utilizados no Brasil são o Peruano ou IAC 5, Quebra-galho e Fly-dragon. O IAC 5 apresenta maior produtividade, melhor tolerância ao vírus da tristeza, ausência de fissuras na casca do tronco, com rendimento maior do que o Quebra-galho e os frutos apresentam casca mais verde e rugosa. Dentre os porta-enxertos já citados, destacam-se o limão Cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e o limão Volkameriano (*Citrus volkameriana* Pasquale) (COELHO, 1993; CARON, 2009).

Dentre as frutas e vegetais, as frutas cítricas são conhecidas por serem uma rica fonte de substâncias benéficas à saúde. A atividade antioxidante desses frutos está ligada a presença do ácido ascórbico, polifenóis e carotenóides na sua composição (MARLETT; VOLLENDORF, 1994; BENAVENTE-GARCÍA et al., 1997; ARTÉS-HERNÁNDEZ; RIVERA-CABRERA; KADER, 2006). Em alguns cítricos, a concentração de ácido ascórbico pode chegar a 680 mg/L de suco e é afetada pela maturidade do fruto e pelo tempo de armazenamento. Segundo Gorinstein et al. (2001), o total de compostos fenólicos contidos no limão é superior aos contidos nas laranjas e grapefruit, além de ter propriedades medicinais e seu óleo essencial ser extraído para uso como aromatizante. Devido a produção de metabolitos fermentativos (etanol e acetaldeído) em condições aeróbicas, a qualidade do limão pode ser afetada (LUCHETTI et al., 2003; ARTÉS-HERNÁNDEZ; RIVERA-CABRERA; KADER, 2006).

3.3. Insetos sugadores não vetores de doenças

3.3.1. Aleirodídeos na Citricultura

Entre os principais insetos pragas da citricultura estão os representantes da Ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha. Hemiptera é conhecida por ser um grupo diversificado, que possui grande variação na morfologia do corpo, asas, antenas e hábitos alimentares. Esse grupo, no geral sofre metamorfose simples. No entanto, o desenvolvimento de espécies de

Aleyrodidae lembra a metamorfose completa, pelo fato de o último instar ninfal ser semelhante a uma pupa (TRIPLERHORN; JOHNSON, 2005).

São conhecidas cerca de 1.550 espécies de aleirodídeos, distribuídas em 161 gêneros e incluídas em três Subfamílias: Aleyrodinae, Aleurodicinae e Udamoselinae. Aleurodicinae contém espécies endêmicas, consideradas mais primitivas, distribuídas principalmente na América do Sul e América Central, sendo muitos destas considerados pragas na agricultura e silvicultura, enquanto outras espécies são conhecidas por transmitirem viroses e substâncias toxicogênicas (CASSINO; NASCIMENTO, 1999; MANZARI; QUICKE, 2006; MARTIN; MOUND, 2007). Em Aleyrodidae, muitas espécies estão registradas em uma única espécie de planta hospedeira e poucas são consideradas polífagas. Em plantas cítricas, são conhecidas no mundo 30 espécies de aleirodídeos, sendo algumas cosmopolitas e polífagas. O conhecimento sobre plantas hospedeiras e a distribuição geográfica dos aleirodídeos ainda é pequeno, sendo a maioria das informações disponíveis referentes a poucas espécies que provocam danos econômicos (SMITH; PENA, 2002; RAGA et al., 2011).

Espécimes de Aleyrodidae são diminutos (menos de 0,5cm de comprimento) e quando adultos possuem quatro asas membranosas. A identificação desses insetos é feita principalmente através da análise da última fase jovem (pupário). Os pupários são encontrados com maior frequência, pois ficam presos às folhas em que se criaram (COSTA LIMA, 1942).

Os aleirodídeos merecem destaque por apresentarem um aparelho bucal do tipo sugador durante toda sua vida e causarem danos diretos a planta por sucção da seiva ou indireto, pela formação da fumagina. A produção fica comprometida e as perdas podem chegar a até 80%, além de transmitirem mais de 200 tipos de vírus de plantas (DOWELL, 1981; OLIVEIRA; SILVA; NAVIA, 1999; HILJE; MORALES, 2008).

Existem seis espécies de aleirodídeos, também conhecidos como moscas brancas, mais comumente associados a *Citrus* spp. no Brasil: *Paraleyrodes crateraformans* (Bondar), *Singhiella citrifolii* (Morgan), *Paraleyrodes bondari* (Peracchi), *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), *Tetraleurodes cruzi* (Cassino) e *Aleurothrixus porteri* (Quaintance & Baker), sendo todas encontradas no estado de São Paulo (CASSINO; NASCIMENTO, 1999; RAGA et al., 2011).

Outra espécie de aleirodídeo vem merecendo destaque na citricultura brasileira, conhecida como mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby). É uma praga originária da Ásia, mas encontra-se amplamente distribuída. É um inseto que vive na parte abaxial da folha e tem como hospedeiro primário espécies de *Citrus*. Em nível mundial, há

registros de infestações em cerca de 300 espécies vegetais. A mosca-negra-dos-citros possui uma grande capacidade de adaptação a diversas condições edafo-climáticas em regiões tropicais e subtropicais (OLIVEIRA; SILVA; NAVIA, 1999; OLIVEIRA; SILVA; NAVIA, 2001; SILVA, 2001; RAGA; IMPERATO; MAIA, 2013).

A mosca-negra-dos-citros foi detectada no Brasil pela primeira vez em maio de 2001, na cidade de Belém, PA (SILVA, 2001). No Estado de São Paulo foi registrada em 2008 na região de Artur Nogueira. Nas regiões onde ocorre, existem relatos de perdas na produção de até 80% (RAGA; COSTA, 2008).

3.3.2. Cochonilhas na Citricultura

Com aproximadamente 7500 espécies distribuídas em 50 famílias (34 existentes + 16 fósseis), as cochonilhas (Hemiptera: Coccoidea) encontram-se presente em todo o globo, tendo diversas espécies nas listas de insetos-praga de plantas de importância econômica. Associadas a *Citrus* spp. estão registradas 332 espécies de coccideos distribuídas em 101 gêneros; cerca de 80% distribuídas nas famílias Coccidae, Diaspididae e Pseudococcidae, e as demais nas famílias Asterolecaniidae, Cerococcidae, Kerridae, Lecanodiaspididae, Margarodidae, Monophlebidae, Ortheziidae, Putoidae, Rhizoecidae e Strictococcidae (GARCIA et al., 2015).

Esses insetos representam o grupo de maior diversidade e abundância em citros. Eles podem ser encontrados em folhas, galhos, tronco e frutos. Os danos causados não diferem dos causados por outros Hemiptera, resultado da ação espoliadora das picadas, da ação tóxica da saliva, além de favorecer a formação de fumagina devido à excreção abundante de substância (honeydew) açucarada (HEMPEL, 1912; COSTA LIMA, 1942; GARCIA-MARÍ, 1994; SMITH; PENA, 2002; MILER et al., 2005; CULIK et al., 2007; MORANDI FILHO et al., 2009; CULIK et al., 2011).

No Brasil, as cochonilhas são pouco estudadas devido às dificuldades de identificação. A falta de conhecimento sobre esses insetos pode ser explicada pelo baixo interesse ou por passarem despercebidos em algumas culturas devido a efetividade dos inimigos naturais em mantê-los em baixos níveis populacionais. As atuais mudanças na citricultura brasileira, em especial os distúrbios no ecossistema citrícola provocados pelo excessivo número de pulverizações anuais de agrotóxicos, tem causado preocupação, pois podem agravar os problemas causados pelas cochonilhas devido a eliminação dos inimigos naturais (SMITH; PENA, 2002; CULIK et al., 2007; SILVA; CHAGAS-FILHO; BUSOLI, 2007).

As cochonilhas apresentam tamanho pequeno e formas variadas. As fêmeas adultas não são aladas e não se locomovem; os machos normalmente possuem um par de asas mas em casos raros, também não possuem asas. Os machos podem ser reconhecidos por não possuírem peças bucais e pela presença de um prolongamento no abdômen. Assim como nos aleirodídeos, apenas as ninfas de primeiro instar se locomovem; ao realizar a primeira muda as pernas e antenas se atrofiam e o inseto se torna sésil. O desenvolvimento dos machos é semelhante ao da fêmea, porém, no último estágio ninfal há o desenvolvimento das asas (COSTA LIMA, 1942; CAMPOS-FARINHA, 2006).

As famílias Coccidae e Diaspididae são as mais importantes na superfamília Coccoidea, sendo as cochonilhas com carapaça (Diaspididae) mais abundantes em plantas em crescimento e quando as condições naturais não são favoráveis aos inimigos naturais. As cochonilhas “sem carapaça” (Coccidae) são assim denominadas por não possuírem uma proteção independente sobre seu corpo, o qual geralmente é coberto por uma espessa camada de cera ou uma secreção farinhenta (SMITH; PENA, 2002).

As cochonilhas de maior importância econômica para a citricultura são as seguintes: *Coccus viridis*; *Pulvinaria* sp.; *Saissetia coffeae* (Walker); *Saissetia oleae* (Oliver) (Coccidae); *Chrysomphalus aonidum* (Linnaeus), *Lepidosaphes beckii* (Newman); *Lepidosaphes gloverii* (Packard); *Parlatoria cinerea* Doane & Hadden; *Mycetaspis personata* (Comstock); *Parlatoria ziziphi* (Lucas); *Pinnaspis aspidistrae* (Signoret); *Unaspis citri* (Comstock); *Selenaspidus articulatus* (Morgan) (Diaspididae); *Icerya purchasi* Maskell (Monophlebidae); *Praelongorthezia praelonga* (Douglas) (Ortheziidae) e *Planococcus citri* (Risso) (Pseudococcidae). O grau de infestação é variável de acordo com as condições ambientais, cuidados culturais e medidas profiláticas adotadas em cada pomar. As cochonilhas são comuns, mais disseminadas e de maior importância econômica para a citricultura paulista (GRAVENA, 2003).

Os coccídeos são ectoparasitas, normalmente encontrados nas folhas, ramos, tronco, pedúnculo e ocasionalmente observados em frutos verdes. O principal dano causado pelas espécies de coccídeos é a queda na qualidade e quantidade dos frutos, devido a formação de fumagina, ocasionado pelo excesso de honeydew (HEMPEL, 1912; COSTA LIMA, 1942; SMITH; PENA, 2002; CULIK et al, 2007).

Praelongorthezia praelonga Douglas (Ortheziidae) é mais importante para a citricultura, podendo ser encontrada nas folhas, ramos, flores e tronco das plantas. Segundo Cassino; Lima e Racca Filho (1991), no estado do Rio de Janeiro até a década de 80, *P.*

praelonga era limitante para o desenvolvimento da citricultura, possuindo uma distribuição geográfica ampla. Esses autores verificaram também que adubações nitrogenadas favorecem o desenvolvimento da praga.

3.3.3. Controle biológico de aleirodídeos e cochonilhas

Predadores e parasitoides são potenciais agentes de controle biológico natural dos aleirodídeos e cochonilhas (MAIA et al., 2004). Pequenas vespas da família Aphelinidae são consideradas os principais inimigos naturais de moscas brancas. Muitas espécies de aleirodídeos têm como hospedeiros culturas de grande importância econômica e uma diversidade de parasitoides associados, que atuam em grau variado de abundância. Os afelinídeos estão primariamente associados a Hemiptera, incluindo as moscas brancas (Aleyrodidae), cochonilhas (Diaspididae) e pulgões (Aphidoidea) (GREATHEAD, 1986; DE BARRO; COMBS, 2009; SCHMIDT; DE BARRO; JAMIESON, 2011).

Microparasitoides pertencentes à família Aphelinidae (Chalcidoidea), são importantes agentes de controle biológico de aleirodídeos pragas, com destaque para *Encarsia* Forster e *Eretmocerus* Haldeman (De BARRO; COOMBS, 2009; SCHMIDT; BARRO; JAMIESON, 2011). Espécies de *Encarsia* e *Cales noacki* Howard (Aphelinidae) são citados como parasitoides de moscas-brancas, principalmente para *A. floccosus*, em várias culturas e em diversos países (De BACH, 1980; IOBC/WPRS, 2004; TAKAHASHI, 2005). Segundo De Barro e Combs (2009), os parasitoides mais importantes das moscas brancas são espécies de *Encarsia* Forster e *Eretmocerus* Haldeman.

Os himenópteros parasitoides, são inimigos naturais chaves no controle biológico das cochonilhas da família Diaspididae e Coccidae. Os principais inimigos naturais dos diaspidídeos pertencem aos gêneros *Aphytis* spp., *Comperiella* Howard (Encyrtidae) e *Encarsia* spp. (Aphelinidae). Entre os parasitoides mais efetivos para o controle biológico das cochonilhas de carapaça estão os representantes da família Encyrtidae, *Metaphycus*, *Anicetus*, *Microteryes* e *Diversinervus*. *Scutellista caerulea* (Fonsocolombe) e *Moranila* spp. (Pteromalidae), *Tetrastichus ceroplastae* (Girault) (Eulophidae) e *Coccophagus* spp. (Aphelinidae) também são considerados potenciais agentes de controle biológico. No controle de pseudococcídeos, destacam-se microparasitoides da família Encyrtidae (SMITH; PENA, 2002).

3.3.4. Gênero *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae): características morfológicas e identificação molecular

A identificação das espécies por meio da taxonomia e sistemática é de extrema importância científica, pois a plasticidade fenotípica e a variabilidade genética podem levar a erros de identificação, aliado ao fato de existirem espécies crípticas em diversos grupos de insetos. Outro problema decorrente da taxonomia baseada apenas em caracteres morfológicos é que as chaves de identificação comumente disponíveis contemplam apenas um estágio de vida do grupo (HEBERT et al., 2003).

O gênero *Encarsia* é um dos mais abundantes e extremamente diverso dentro da família Aphelinidae, superfamília Chalcidoidea, sendo a maioria das espécies parasitoides de mosca branca (Aleyrodidae) e cochonilhas de carapaça (Diaspididae) (POLASZEK; MANZARI; QUICKE, 2004; NOYES, 2013). Assim como outros himenópteros parasitoides, os representantes do gênero *Encarsia* são haplodiploides e a reprodução é por partenogênese arrenótoca, onde as fêmeas são diploides, provenientes de ovos fertilizados, enquanto os machos são haploides, provenientes de ovos não fertilizados. Algumas espécies de *Encarsia* se reproduzem por partenogênese telítoca, onde as fêmeas se originam de ovos não fecundados e os machos são raros ou desconhecidos. A maior parte das espécies de *Encarsia* são autoparasitoides, com as fêmeas parasitoides primários e os machos hiperparasitoides (HUNTER; WOOLLEY, 2001).

Em programas de controle biológico, espécies de *Encarsia* têm sido largamente utilizadas. Por isso, devido a sua importância econômica, esse gênero tem sido amplamente estudado ao redor do mundo (HERATY et al., 2004).

Devido ao seu pequeno porte (< 1 mm), características morfológicas uniformes entre grupos de espécies e a existência de espécies crípticas, a identificação morfológica de muitas espécies de himenópteros parasitoides de *Encarsia* tem sido problemática. Em muitas espécies já descritas, as fêmeas são idênticas. Portanto os machos devem estar disponíveis para identificação específica. No entanto, a disponibilidade de machos está sujeita a variações em muitas populações (HUNTER, 2009; POLASZEK; MANZARI; QUICKE, 2004).

A correta identificação das populações de parasitoides é indispensável para as avaliações de risco de agentes de controle biológico (BARRAT et al., 2010). A identificação através dos aspectos morfológicos dos microhimenópteros parasitoides tem gerado diversas dificuldades, as quais têm sido aliviadas devido ao sucesso da identificação através do

sequenciamento do DNA desses insetos, possibilitando a identificação das espécies de *Encarsia* (BABCOCK; HERATY, 2000; BABCOCK et al., 2001; MANZARI et al., 2002; POLASZEK; MANZARI; QUICKE, 2004). A taxonomia integrativa fornece uma estrutura prática para delimitação de espécies, integrando dados moleculares, morfométricos, biológicos, ecológicos e comportamentais, esclarecendo muitos problemas considerados sem solução pelos morfologistas (HILLIS, DIXON; 1991; LOXDALE; LUSHAI, 1998; DAYRAT, 2005; MARINHO, 2009; SCHMIDT; DeBARRO; JAMIESON, 2011; CHESTERS et al., 2012; GEBIOLA et al., 2016).

A taxonomia e sistemática de *Encarsia* tem sido beneficiada através do uso dos marcadores moleculares, como os de expansão da região D2 do gene ribossômico 28S e do gene mitocondrial citocromo c oxidase subunidade I (COI), que em conjunto com a identificação morfológica tem possibilitado uma classificação correta dos complexos dentro do gênero *Encarsia* (BABCOCK; HERATY, 2000; BABCOCK et al., 2001; MANZARI et al., 2002; POLASZEK; MANZARI; QUICKE, 2004). No entanto, o problema de identificação genética das espécies crípticas de *Encarsia* foi resolvido apenas duas vezes, utilizando COI sozinho ou em combinação com o 28S-D2 (MONTI et al., 2005; GEBIOLA et al., 2016). Para identificação de espécies crípticas de *Encarsia*, tem se realizado aplicação morfológica multivariada (HERATY; POLASZEK, 2000; GIORGINI; BALDANZA, 2004; POLASZEK; MANZARI; QUICKE, 2004).

Estudos comprovam que a diversidade na sequência de aminoácidos no gene Citocromo C oxidase subunidade I é uma ferramenta eficiente para caracterizar taxonomicamente as espécies (HEBERT et al., 2003). Segundo pesquisa realizada por Hebert et al. (2003), as discriminações de espécies de Lepidoptera intimamente relacionadas, um grupo com alta diversidade e moderadas taxas de evolução molecular, foram possíveis através do uso do COI. A utilização de genes para identificação de espécies ficou conhecida como DNA Barcoding, onde é empregada a padronização do fragmento genômico, no caso, COI para espécies animais (MEYER; PAULAY, 2005).

3.4. Aspectos pré e pós-colheita: colheita, beneficiamento, qualidade e conservação da lima ácida ‘Tahiti’ para exportação

A qualidade das frutas depende diretamente de fatores relacionados às condições intrínsecas e às manipulações. A partir da colheita, a qualidade do fruto pode ser mantida ou deteriorada.

O processo de colheita é de extrema importância para garantir a qualidade dos frutos na pós-colheita. Considerada a última operação no processo produtivo, deve ser realizada de maneira criteriosa, pois, para o consumo *in natura*, a aparência dos frutos é muito importante. Para a indústria, a exigência maior é em relação à maturidade e propriedades organolépticas dos frutos (POZZAN; TRIBONI, 2005; BASSAN et al., 2006).

Para garantir a qualidade do fruto na pós-colheita, a colheita deve ser realizada no estágio ideal, que, para lima ácida ‘Tahiti’ corresponde a coloração verde oliva brilhante; superfície da casca parcialmente lisa; diâmetro equatorial dos frutos entre 47 e 65mm; porcentagem de suco entre 42 e 50% da massa do fruto (BLEINROTH, 1995). Os frutos são colhidos ainda em desenvolvimento, evitando que entrem em senescência, pois, uma vez iniciado, esse processo não pode ser interrompido ou retardado (GAYET; SALVO FILHO, 2003).

Comumente, o processo de colheita consiste em colher manualmente fruta a fruta por torção e, em seguida, depositá-las em sacolas ou baldes plásticos com capacidade aproximada de 20 litros. Ao completar o volume das sacolas ou baldes, as frutas são transferidas cuidadosamente para caixas plásticas com capacidade de 27 kg, que servirá para transporte até *o packinghouse*.

A colheita é considerada uma das etapas mais críticas do processo de produção, devendo ser realizada de forma criteriosa, pois se o destino do fruto for o consumo *in natura*, os parâmetros como aparência e frescor são importantes. Por ser realizada de forma sistemática, o custo da colheita da lima ácida ‘Tahiti’ é superior ao da laranja. Os valores totais agregados à colheita podem variar de US\$ 8,00 t⁻¹ na safra a US\$ 34, 00 t⁻¹ na entressafra (GAYET; SALVO FILHO, 2003). Valores esses que justificam a realização de cuidados adicionais na colheita desses frutos, uma vez que estresses causados durante essa fase poderão prejudicar a resistência dos frutos na pós-colheita, interferindo na aparência e causando distúrbios fisiológicos.

Assim como toda fruta cítrica, a lima ácida ‘Tahiti’ não é climatérica e, portanto, possui atividade respiratória baixa e constante, com leve declínio após a colheita, apresentando poucas alterações fisiológicas e bioquímicas, podendo ser armazenados por longos períodos (6-8 semanas) (KADER, 2002; ARTÉS-HERNÁNDEZ; RIVERA-CABRERA; KADER, 2006; CARON, 2009). As mudanças características desse fruto estão relacionadas a transpiração que causa perda de massa e pela mudança de coloração, a qual, em geral, depende dos fatores ambientais como umidade, temperatura, luminosidade, solo, porta-enxertos, tratamentos culturais e

fatores endógenos. Porém, durante a colheita e o processamento dos frutos podem ocorrer lesões, as quais induzem reações bioquímicas no fruto, reduzindo a qualidade e *shelf-life* da fruta (CHITARRA; CHITARRA, 1990).

Segundo Chitarra e Chitarra (1990 e 2005), as principais causas de perdas em pós-colheita podem ser classificadas em: a) fisiológicas – decorrentes de fatores endógenos e consideradas inevitáveis; b) mecânicas – injúrias que levam ao aumento da taxa de respiração e transpiração, ocasionando maiores perdas fisiológicas; c) microbiológicas – ataques por microrganismos, fungos atuantes no pré e pós-colheita são uma das maiores causas de perda; o ataque de pragas e injúrias também favorecem a predisposição do fruto à microrganismos.

Os frutos de lima ácida ‘Tahiti’ destinados à exportação colhidos ainda em desenvolvimento são transportados em caixas plásticas até o *packinghouse*, onde passam por lavagem com desinfetantes (detergente e hipoclorito de sódio), seguido de descanso entre 12 e 24 horas. Posteriormente é realizada a aplicação de cera, podendo ou não receber fungicidas previamente ou em mistura com a cera. Os processos de manipulação durante a pós-colheita, podem resultar em diversas injúrias. Ao ocorrer danificação do tecido, o mesmo torna-se susceptível à infecção por microrganismos patogênicos, além de favorecer o aparecimento de cicatrizes visíveis, comprometendo a aparência dos frutos (GOLOMB et al., 1984; FISCHER et al., 2007).

O rompimento das glândulas de óleo por injúrias mecânicas são chamadas de oleocelose. Lesões causadas por injúrias mecânicas em pós-colheita comprometem a qualidade dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’, podendo alterar as reações bioquímicas, afetando os conteúdos de ácido ascórbico, acidez titulável e sólidos solúveis, provocando aumentos na atividade respiratória, alterando a aparência e conseqüentemente reduzindo o período de comercialização dos frutos (DURIGAN et al., 2005; FISCHER et al., 2007).

O processo de beneficiamento do fruto inicia-se logo após a colheita, sendo composto pelas seguintes etapas: recepção da fruta na unidade de beneficiamento (*packinghouse*); lavagem e seleção; aplicação de fungicida; repouso de 24h; aplicação de cera; classificação e embalagem; paletização e armazenamento em câmara fria (frutos destinados à exportação).

A recepção consiste em manter os frutos em local limpo e ventilado até que se inicie o primeiro processo de beneficiamento, lavagem e seleção. Esta primeira etapa consiste em, primeiramente, sanitizar os frutos com hipoclorito de sódio e em selecioná-los, retirando-se os frutos danificados e em desacordo com os padrões de comercialização. Ainda, nessa etapa, os frutos destinados à exportação, visando o aumento da *shelf-life* da lima ácida ‘Tahiti’, recebem

aplicação de fungicida (Imazalil) em doses que variam de 500 a 1000 mL de produto comercial por m³ de água, podendo ser aplicado o regulador vegetal ácido giberélico (GA₃). Essa aplicação tem como objetivo reduzir a carga do inóculo de patógenos na superfície do fruto, decréscimo das infecções produzidas no campo e supressão da esporulação e dispersão de esporos através do uso do fungicida e a conservação da coloração verde da casca de lima ácida ‘Tahiti’ pela aplicação do ácido giberélico (IBRAF, 1995; POZZAN, 1997; NASCIMENTO et al., 2005; BASSAN et al., 2016).

Após a sanitização e primeira seleção, os frutos seguem para fase de repouso de 24 horas, a qual, para a lima ácida ‘Tahiti’, é necessária para detecção de distúrbios fisiológicos e podridões. Após o repouso, os frutos passam por nova seleção para retirada dos que apresentaram danos ou podridões. Em seguida, os frutos recebem uma pulverização de cera a base de carnaúba ou polietileno, e são acondicionados em embalagens plásticas, de madeira ou papelão, com tamanhos variando de 4 a 29 kg.

A etapa de aplicação de cera tem como objetivo reduzir a perda de massa dos frutos, reduzindo, assim, a incidência de amolecimento e murchamento, também apresentando ação antifúngica e minimiza desordens do tecido próximo ao pecíolo (WAKS et al., 1985; BASSAN et al., 2016). Após a paletização, os frutos destinados à exportação são armazenados em ambiente refrigerado com temperatura de aproximadamente 10°C, armazenamento esse que auxilia na conservação das características de qualidade desta fruta cítrica, para o aumento do período de comercialização (KLUGE, 2006).

Perdas econômicas por doenças causadas por fungos e distúrbios fisiológicos são as principais preocupações na produção e processamento dos frutos, representando sérios obstáculos à citricultura.

Os patógenos de importância econômica podem ser separados em duas categorias baseadas em sua infecção inicial. Infecções em pré-colheita, onde os patógenos infectam o fruto ainda no campo durante a fase de desenvolvimento e se mantêm latente até a colheita, onde ocorrem mudanças significativas nas características dos frutos e nas condições ambientais, favorecendo seu desenvolvimento, entre esses patógenos, destacam-se: *Lasiodiplodia theobromae* Griffon & Maubl., causador da podridão da raiz; *Phomopsis citri* Fawcetti, agente causal da podridão peduncular; *Alternaria citri* Ellis & N. Pierce, causador da podridão negra em citros; *Botrytis cinerea*, causador do mofo cinzento; *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc., causador da antracnose e *Phytophthora* spp., causadores da gomose. Entre os agentes causais de infecções pós-colheita, ou seja, infectam o fruto através de feridas ou injúrias

na casca, destacam-se: *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., conhecido como bolor verde; *Penicillium italicum* Wehmer, conhecido como podridão azul; *Geotrichum citri-aurantii* (Ferraris) R. Cif. & F. Cif., causador da podridão azeda e *Aspergillus niger* Tiegh., causador do mofo-preto nos frutos (PALOU, 2009).

As perdas no pós-colheita decorrentes das doenças fúngicas dependem de fatores como área de produção, variedade cítrica, idade da planta, clima durante o cultivo e colheita, injúrias físicas causadas durante a colheita e manuseio, efetividade do tratamento pós-colheita e ambiente de beneficiamento do fruto.

A incidência de perdas por infecção fúngica é maior em áreas que apresentam verão chuvoso, como na Florida e Brasil, favorecendo o desenvolvimento principalmente de *L. theobromae* e *P. citri*, os quais dependem da umidade relativa para produção de inóculos e dispersão, e, conseqüentemente, colonização e infecção dos frutos. Em áreas de produção com baixo volume de chuvas durante o verão as perdas são consideradas menores e os principais agentes causais são os patógenos que dependentes de injúrias, com *Penicillium* spp. Os bolores causados por *Penicillium* spp. também são patógenos importantes em ambientes úmidos devido a rápida reprodução do *P. digitatum* e *P. italicum*, onde os esporos estão presentes na atmosfera e na superfície dos frutos e são rapidamente disseminados pelas correntes de ar, podendo tornar frutos saudáveis em frutos não comercializáveis. Por essa razão os tratamentos pós-colheita são baseados principalmente no controle do mofo verde e azul, sendo feitos principalmente com o uso de fungicidas convencionais como o imazalil, ortofenilfenato de sódio e tiabendazol (PALOU, 2009; CARON, 2009).

Os distúrbios fisiológicos são alterações de origem não patogênica, decorrentes de modificações no metabolismo normal de um vegetal, ou na integridade estrutural de seus tecidos, causando alterações na aparência e no sabor dos vegetais, levando à redução na qualidade e aceitação pelo mercado consumidor (KLUGE et al., 2001).

Oleocelose e podridão estilar são os principais distúrbios fisiológicos encontrados na lima ácida 'Tahiti'. A primeira é caracterizada pelo rompimento das glândulas de óleo presentes na casca desse fruto, onde ocorre o extravasamento do seu conteúdo, provocando injúrias nas células ao redor da epiderme da casca do fruto, o qual só é visível após um período de armazenamento. Segundo Aguilar-Vildoso et al. (2005), a ocorrência desse distúrbio está relacionada com o dano mecânico do fruto durante a colheita e manipulação na pós-colheita, e é favorecido pela turgescência das glândulas de óleo. Para evitar danos por oleocelose, deve-se

evitar a colheita em dias nublados, chuvosos ou após irrigação, quando o fruto está turgido. Além disso, o manuseio durante a colheita e beneficiamento dos frutos deve ser cuidadoso.

A podridão estilar é caracterizada pelo rompimento das vesículas de suco, localizadas na periferia dos lóculos dos frutos. A invasão do suco liberado na casca pelo eixo central causa os sintomas do distúrbio, levando a podridão dos tecidos, inicialmente de coloração parda. O estado de maturação dos frutos e a temperatura estão diretamente relacionados com a ocorrência desse distúrbio. Portanto, a colheita dos frutos antes de atingirem a maturação e fora do período de máxima turgescência das glândulas pode amenizar a ocorrência da podridão estilar (AGUILAR-VILDOSO et al., 2003).

As fontes de perdas são distribuídas ao longo da cadeia de comercialização do fruto, desde a produção até o consumidor final. Em estudo realizado por Peleg (1985) e Sargent et al. (1989a e 1989b), a seleção e classificação, ou a passagem dos frutos por equipamentos inadequados podem ser os principais pontos de incidência de injúrias mecânicas.

A ocorrência dos fungos *Penicillium* spp., *L. theobromae* e *P. citri*, e de danos fisiológicos são as principais causas de perda pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ destinados à exportação. O conhecimento dos fatores biológicos, fisiológicos e ambientais envolvidos na deterioração dos frutos e o uso de técnicas pós-colheita que atrasem a senescência e mantenham a melhor qualidade possível é imprescindível para que ocorra redução dessas perdas (KADER, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização do Experimento

O projeto foi desenvolvido a partir da coleta de folhas infestadas por aleirodídeos e cochonilhas em dois pomares comerciais de lima ácida ‘Tahiti’, localizados no município de Mogi Mirim, bairro Pirapitingui, região centro-leste do Estado de São Paulo. Segundo Koppen (1948), o clima da região é caracterizado como CWA (Clima subtropical húmido). Os pomares escolhidos apresentavam histórico de infestação por aleirodídeos e cochonilhas (acervo pessoal do proprietário).

A área 1 (Figura 1) (22°32’49.46”S 47°01’00.90”O) consiste de um pomar certificado orgânico desde sua implantação em 2004 e composta por plantas de aproximadamente 3m de altura. A área total é de 12,1 ha, contendo 4.809 plantas (10,8 ha), com espaçamento de 7,5 x 3,0m e densidade de plantas de 445. A área 2 (Figura 2) (22°33’59.41”S 47°02’29.12”O) é um pomar em transição de sistema convencional para orgânico, desde 2014. A área foi mplantada em 2006 é composta por árvores de aproximadamente 2,5 m de altura, com área total de 5,1 ha cultivados, contendo 2.465 plantas com espaçamento de 7,5 x 3,5 m, sendo a densidade de plantio de 380 plantas/ha. As áreas foram escolhidas devido a semelhança no relevo, condições climáticas e por receberem os mesmos tratos culturais, sendo a distância linear entre as áreas de 2,5 km.

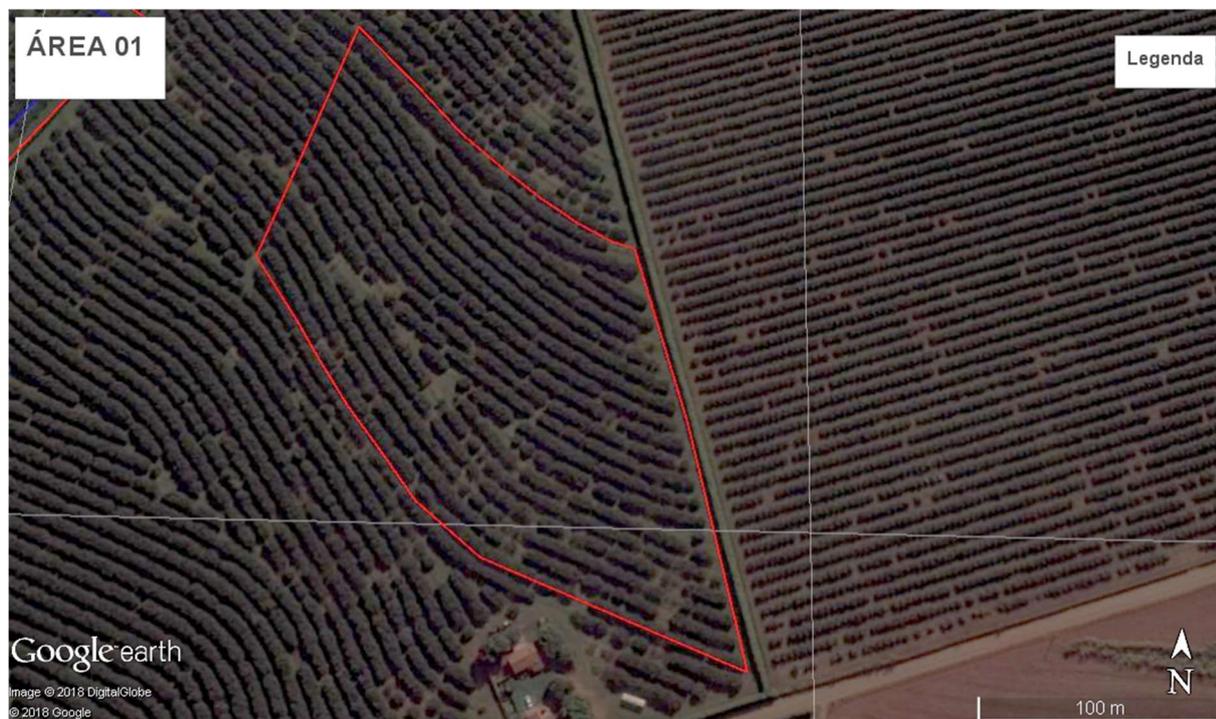


Figura 1. Talhão comercial de lima ácida ‘Tahiti’ orgânico (área 1) localizado no município de Mogi Mirim/SP. (Fonte: Google Earth)



Figura 2. Talhão comercial de lima ácida Tahiti em transição para orgânico (área 2) no município de Mogi Mirim/SP. (Fonte: Google Earth)

4.2. Obtenção de aleirodídeos e cochonilhas

Nas áreas escolhidas, foi delimitado um talhão de 14 ruas com 65 plantas cada. Dentro desse talhão foram excluídas as duas primeiras e as duas últimas ruas e, nas dez ruas centrais foi escolhida aleatoriamente uma planta por rua, totalizando dez plantas por talhão, representando 1,1% das plantas na área delimitada. Quinzenalmente, nas plantas previamente marcadas, foram coletadas 12 folhas (3 folhas de cada quadrante) por planta, que apresentassem posturas e formas imaturas (Figura 3) de insetos das famílias Aleyrodidae, Diaspididae, Coccidae, Pseudococcidae, Ortheziidae e Margarodidae. As folhas escolhidas foram aquelas dispostas entre 0,5 e 1.0 m de profundidade devido a maior incidência dos insetos de interesse nessas regiões da planta, totalizando 120 folhas/coleta/talhão. Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos de 200 ml previamente identificados e imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Entomologia Econômica do Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal, em Campinas, São Paulo.



Figura 03. Folha de lima ácida 'Tahiti' (*C. latifolia*) infestada por insetos fitófagos, coletada em pomar comercial no município de Mogi-Mirim, São Paulo. Foto: Imperato, R.

4.3. Diversidade populacional de aleirodídeos e cochonilhas

Para determinar a diversidade populacional de aleirodídeos foi avaliada a parte abaxial das folhas e, quando necessário, a parte adaxial, onde, sob microscópio estereoscópico marca Nikon, modelo SMZ745T, foram contabilizadas as formas imaturas das espécies de aleirodídeos. As identificações dos aleirodídeos foram realizadas utilizando as chaves de identificações propostas por Hodges e Evans (2005) e Evans (2008). As classificações de cochonilhas foram realizadas a partir das descrições realizadas por Browning et al. (1995) e Parra; Oliveira; Pinto (2003) e posteriormente enviadas à Dra. Vera Regina dos Santos Wolf (Fepagro) para identificação específica. As espécies mais frequentes tiveram sua flutuação populacional representadas graficamente. Para se conhecer a riqueza das espécies de aleirodídeos e cochonilhas nos pomares de lima ácida ‘Tahiti’, determinou-se a diversidade de espécies através da fórmula de Shannon- Weaver:

$$H' = - \sum p_i \cdot \ln p_i$$

$$\text{Sendo } p_i = n_i / N$$

Onde: H = índice de diversidade das espécies; s = n° de espécies; p_i = proporção do número total de espécies; n_i = n° de indivíduos da espécie i e N – n° total de indivíduos. Onde, quanto maior o índice H' maior a diversidade das espécies.

Foram registrados os dados referentes à precipitação pluviométrica e temperatura média durante os dois anos de levantamento, através do CIIAGRO online.

4.4. Determinação do índice de parasitismo em aleirodídeos e cochonilhas nas duas áreas de lima ácida ‘Tahiti’ e obtenção de parasitoides de aleirodídeos

Em laboratório, sob microscópio estereoscópico de marca Nikon, modelo SMZ745T, a fim de garantir a especificidade, foram individualizadas formas imaturas (ninfas de terceiro instar e pupas) de aleirodídeos e cochonilhas com sintomas de parasitismo (Figuras 4), de acordo com a metodologia proposta por Imperato (2014). Em seguida, as formas imaturas foram acondicionadas em microtubos plásticos de 2ml e mantidas em sala climatizada (temperatura 25±2°C e umidade relativa 70±10%) por até 30 dias, até a emergência dos parasitoides. Para determinação da taxa de parasitismo, além da contagem e separação das ninfas parasitadas, foram contabilizadas as ninfas e pupas com sintomas de emergência de parasitoides.

Após emergência, os parasitoides foram imediatamente armazenados em microtubos plásticos de 2 ml contendo etanol 70-95%, dependendo do destino do exemplar. Para determinação das famílias e morfoespécies, os parasitoides foram observados sob microscópio estereoscópico.



Figura 4. A - Pupa de himenóptero parasitoide parasitando ninfa de quarto ínstar de mosca-negra-dos-citros (*A. woglumi*) recuperada em folha de lima ácida ‘Tahiti’ de pomar comercial no município de Mogi-Mirim. (Foto: V.A.Costa). B – Pupa de himenóptero parasitoide parasitando ninfa de quarto ínstar de mosca-negra-dos-citros (*A. woglumi*) (superior) e ninfa de quarto instar de mosca-negra-dos-citros não parasitada (inferior) recuperadas em folha de lima ácida ‘Tahiti’ de pomar comercial no município de Mogi-Mirim (Foto: Imperato, R.); C – Pupa de himenóptero parasitoide parasitando ninfa de mosca branca recupera em folha de limão ‘Tahiti’ de pomar comercial no município de Mogi-Mirim (Foto: Imperato, R.).

4.5. Caracterização Morfológica das espécies de *Encarsia*

Para identificação das espécies de *Encarsia* foi utilizada a chave de Polaszek; Manzari; Quicke, (2004).

4.6. Análise Molecular dos Parasitoides

4.6.1. Preparo do Material

Após a identificação e separação por morfoespécies, os espécimes de *Encarsia* foram submetidos à extração de DNA. Sendo utilizado o exemplar inteiro.

4.6.2. Extração do DNA

A extração do DNA genômico foi realizada no Laboratório de Bioquímica Fitopatológica, do Instituto Biológico, em São Paulo (SP), utilizando o Kit “GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit” da Sigma- Aldrich. Inicialmente os espécimes passaram por secagem a vácuo, posteriormente, com auxílio de um pistilo, foi realizado o esmagamento dos espécimes. Foi adicionado 180 µl da solução de lise T (B6678), seguida da adição de 20 µl da solução de lise Proteinase K. Foram homogeneizados com auxílio do Vortex (1200 rpm) por 10s e incubados a 55°C por 1 hora até completa digestão dos tecidos. Após incubação foram brevemente agitados com auxílio do vortex. Foi adicionado 200 µl da Solução de Lise C (B8803) às amostras, as quais foram agitadas por 15 segundos no vortex a posteriormente incubadas a 70°C por 10 minutos para lise celular. Foi adicionado 500 µl da Solução de preparo da Coluna em cada “GenElute™ Miniprep Binding Column” e centrifugado a 12.000rpm por 1 minuto. O líquido sobrenadante foi descartado. Foi adicionado 200 µl de etanol (100%) e misturado no vortex por 5-10 segundos. A amostra foi filtrada no “GenElute™ Miniprep Binding Column”. Após a filtragem, a amostra foi centrifugada a 6.500rpm por 1 minuto e o sobrenadante foi descartado. Foram realizadas duas lavagens com solução tampão, sendo a primeira com 500 µl da solução tampão com etanol e centrifugada a 6.500rpm por 1 minuto. A segunda lavagem foi realizada com 500 µl da solução tampão com etanol e centrifugada por 3 minutos com 12.000rpm. Após a centrifugação, a solução tampão foi descartada e a amostra centrifugada novamente. Foi adicionado o tampão sem etanol para que o DNA fosse desprendido do filtro, onde foi centrifugado e incubado por 5 minutos. O filtro foi descartado e o DNA armazenado em microtubos de plástico. A integridade do DNA extraído foi avaliada em gel de agarose em tampão tris-acetato-EDTA (TAE) e visualizada em transluminador.

4.6.3. Amplificação da região D2 do 28S rDNA e COI

As amostras de DNA extraídas foram submetidas à reação de cadeia da polimerase (PCR) para a amplificação do segmento de expansão (D2) da estrutura secundária 28S do rDNA e de uma parte do gene mitocondrial, a subunidade I da citocromo oxidase (COI). Para a amplificação dessas porções foram utilizados os iniciadores (primers) “forward” 5'-GCGAACCCGTACCGTGAGGG-3' e “reverse” 5'-TAGTTCACCATCTTTCGGGTC-3'

para região 28S e para a região COI foram utilizados os primers “forward” 5’-CAACATTTATTTTGATTTTTGG-3’ e “reverse” 5’-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3’.

Para preparo do PCR, foram utilizados 25 µl da reação padrão de PCR contendo 1 µl de DNA, 0,5 µl de cada primer, 5 µl de solução tampão na concentração de 5 vezes, 0,5 µl de nucleotídeos, 0,1 µl de TAQ Polimerase e 17,9 µl de água.

As condições do PCR foram: 40 ciclos de desnaturação 95°C (10 segundos), 50° anelamento (30 segundos) e 72° extensão (40 segundos) com desnaturação inicial por 2 minutos e extensão final por 4 minutos.

Os produtos da amplificação foram analisados em gel de agarose a 1,5%, contendo 0,5µg/ml de brometo de etídio para a coloração de fragmentos de DNA, em tampão tris-acetato-EDTA (TAE) a 5V/cm. A visualização do gel foi feita em transluminador. Os produtos da PCR foram purificados com QIAquick PCR Purification Kit da Quiagen®, de acordo com as especificações do fabricante.

4.6.4. Alinhamento das sequencias

As sequencias para o ITS e 28S rDNA D2 e COI primeiramente foram visualmente alinhadas e posteriormente pelo programa Clustal X (Thompson et al., 1997), com penalidade por intervalo aberto igual a 13 e penalidade pela extensão do intervalo igual a 7,6. As sequencias para o ITS e 28S rDNA D2 e COI amplificadas foram alinhadas com as sequencias de diferentes espécies de *Encarsia* disponíveis no banco mundial de dados genéticos Genbank - National Center for Bioinformatics (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

4.7. Mapeamento dos Pontos Críticos de Contaminação no Pós-colheita e Incidência de distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita

Para determinação dos efeitos das etapas de beneficiamento pós-colheita de lima ácida ‘Tahiti’, foram realizadas três coletas entre os meses de agosto e outubro de 2018. Os frutos foram provenientes de pomares localizados em diferentes municípios paulistas de Jales (Lote 1), Itajobi (Lote 02) e Mogi-Mirim (Lote 03) e beneficiados no *packinghouse* localizado no município de Mogi-Mirim (SP).

O tipo de colheita foi padronizado, sendo que o método escolhido foi o de torção, pois é o mais utilizado pelos produtores de lima ácida Tahiti.

Após a colheita, os frutos foram transportados até o *packinghouse* onde foram lavados com detergente neutro, passaram por uma seleção inicial de tamanho, posterior a seleção foram sanitizados numa balsa de 2000L de capacidade, com hipoclorito de sódio a 200ppm e fungicida Imazalil (100ml/100L) por 2 minutos, logo após os frutos foram tratados como regulador vegetal ácido giberélico (10%) (10g/100L) por 30 segundos. Após aplicação do GA, os frutos foram acondicionados em caixas plásticas de 27kg e colocados em repouso por 24 horas, em condições ambiente de temperatura e umidade. Em seguida, receberam a aplicação de cera a base de carnaúba (18%) na dose de 1kg t⁻¹. Após a aplicação de cera, os frutos passaram por secagem, seleção e foram embalados em caixas de papelão de 4,5kg para comercialização no mercado externo.

Ao longo do processo de beneficiamento, foram estabelecidos sete pontos de coleta de frutos, de acordo com a rotina do *packinghouse*, os quais correspondem as etapas estudadas:

Etapa 01 – Recepção: coleta de frutos na área de recepção do *packinghouse*, provenientes de colheita por torção e transportados em caixas plásticas;

Etapa 02 - Lavagem: coleta de frutos após passarem pela lavagem com detergente neutro e água;

Etapa 03 – Primeira Seleção: coleta de frutos após lavagem e seleção por tamanho;

Etapa 04 – Sanitização: coleta de frutos após lavagem, seleção por tamanho e imersão em hipoclorito de sódio a 200ppm por 1:30 minutos;

Etapa 05 – Sanitização + Fungicida + GA: coleta de frutos após lavagem, seleção por tamanho, sanitização por 2 minutos em hipoclorito de sódio a 200ppm com Imazalil (100ml/100L) e aplicação de ácido giberélico (10g/100L);

Etapa 06 – Repouso de 24 horas: coleta de frutos após lavagem, seleção por tamanho, sanitização por 2 minutos em hipoclorito de sódio a 200ppm com Imazalil (100ml/100L), aplicação de ácido giberélico (10g/100L) e descanso de 24 horas;

Etapa 07 – Beneficiamento completo: frutos provenientes de colheita por torção, encaminhados ao *packinghouse* em caixas plásticas com capacidade de 27kg, submetidos a lavagem com água e detergente, seleção por tamanho, sanitização por 2 minutos em hipoclorito de sódio a 200ppm com Imazalil (100ml/100L), aplicação de ácido giberélico (10g/100L), descanso de 24 horas, aplicação de cera de carnaúba, secagem a 60°C e embaladas em embalagem de papelão de 4,5kg;

Em cada etapa foram coletados 50 frutos, totalizando 350 frutos por lote. Após a coleta, os frutos foram transportados até o Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) onde foram armazenados em câmaras com temperatura e umidade controladas ($8-10\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR), por 30 dias, posteriormente foram transferidos para câmara com temperatura $24^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ e Umidade relativa $85\pm 5\%$, por mais três dias.

No laboratório, na chegada dos frutos das etapas 06 e 07 (10 frutos por etapa), às características de qualidade observadas foram: teores de acidez titulável, sólidos solúveis ($^{\circ}\text{Brix}$) (Figura 5), pH (Figura 6), massa dos frutos (Figura 7), volume do suco, diâmetro (Figura 8) e coloração com o auxílio do colorímetro Konica Minolta (Figura 9). Os demais frutos (50 de cada etapa), foram reservados para realização de análises quanto à incidência de distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita. As análises foram realizadas semanalmente até o final do período de armazenamento de 30 dias. Ao final do período de armazenamento, foi realizada a contagem de todos os frutos beneficiados para contabilizar a ocorrência dos distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita, em função de cada etapa do processo de beneficiamento. Os frutos foram classificados como comercializáveis e não comercializáveis (com podridões e distúrbios fisiológicos) e, ao final do trigésimo terceiro dia, foram repetidas as análises de qualidade realizadas no primeiro dia, com 10 frutos de cada etapa, formando 5 amostras compostas por 2 frutos cada, também em função de cada etapa do processo de beneficiamento.

O delineamento utilizado foi em blocos inteiramente casualizados, sendo que cada tratamento (etapas) foi formado por três repetições e as repetições foram compostas por amostras de 10 frutos. Foi utilizado o programa SISVAR para as análises estatísticas. As médias foram analisadas através do teste de Tukey com $P < 0,05$.

Análises de qualidade:

Coloração da casca: determinada com colorímetro, com coloração expressa através de três parâmetros: luminosidade (L^*), que oscila entre 0 (cores escuras ou opacas) a 100 (cores brancas ou brilho); o grau de coloração vermelha ou verde (a^*), que varia de -100 (verde) a 100 (vermelho), e o grau de coloração amarela ou azul (b^*), que varia entre -100 (azul) a 100 (amarelo). Para determinação da cor foram realizadas duas leituras em lados opostos da região equatorial dos frutos de cada amostra. Foi utilizado o índice de cor (IC) para determinação da coloração da casca, calculado pela equação $IC = 1000 \times a/(L \times b)$. O índice de cor varia entre -20 e +20, sendo que quanto mais negativo (menor o IC), mais verde será a coloração da casca (JIMENEZ- CUESTA et al., 1983).

Perda de massa: as caixas contendo 50 frutos cada foram pesadas individualmente no primeiro dia e no 33º dia, sendo a perda de massa calculada, em porcentagem, pela diferença da massa inicial e final;

Acidez titulável (%): 10mL de suco de cada amostra foram colocados em 90mL de água destilada. A titulação potenciométrica foi realizada com hidróxido de sódio 1 N até pH 8,10 (ponto de viragem da fenolftaleína). Os cálculos foram realizados segundo Carvalho et al. (1990), onde $AT = ml\ NaOH \times N \times 64,02 \times 100\ g - amostra \times 1000$.

Onde: mlNaOH = volume da solução de NaOH adicionada à amostra (mL); N = normalidade da solução NaOH; 64,02 = equivalente grama do ácido cítrico; g - amostra = massa da amostra (g).

Teores de sólidos solúveis: três gostas de cada amostra composta foram colocadas no refratômetro digital, com correção automática para 20°C, sendo os resultados expressos em °Brix.

Avaliação visual:

Semanalmente os frutos foram avaliados visualmente e contabilizados os danos fisiológicos e a ocorrência de doenças pós-colheita.



Figura 5. Refratômetro portátil utilizado para determinação do teor de sólidos solúveis de lima ácida 'Tahiti'. Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).



Figura 6. Medidor de pH utilizado para determinação do pH de lima ácida 'Tahiti'. Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).



Figura 7. Balança digital utilizada para pesagem dos frutos e massa do suco de lima ácida 'Tahiti', provenientes dos municípios Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).



Figura 8. Paquímetro digital utilizado para medição do diâmetro de lima ácida 'Tahiti', no Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).



Figura 9. Colorímetro utilizado para determinação da coloração em lima ácida 'Tahiti', Laboratório de Fitopatologia do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Insetos fitófagos e parasitoides associados

5.2.1. Avaliação de dos insetos fitófagos

No período de junho de 2015 a junho de 2017 foram realizadas 51 coletas em cada área de lima ácida ‘Tahiti’. Nesse período, um total de 12.240 folhas foram coletadas e recuperados 256.976 insetos aleirodídeos e cochonilhas, com incidência média de 20,99 insetos/folha.

Na área 1, foram contabilizados 158.391 espécimes de cochonilhas e aleirodídeos distribuídos em 6.120 folhas, com média de 25,88 insetos/folha. O quadrante oeste apresentou maior concentração de aleirodídeos e cochonilhas, com 42.382 espécimes recuperados, sendo 11.200 insetos recuperados na planta 7 (Figura 10) e os demais divididos nas outras nove plantas. Raga et al. (2016) ao estudar dinâmica populacional da mosca-negra-dos-citros em lima ácida ‘Tahiti’ recuperou maior número de ninfas e ovos no quadrante oeste das plantas. Nas plantas 1, 2, 3, 8, 9 e 10, o quadrante norte apresentou maior concentração de insetos fitófagos (Figura 10). Nas plantas 4 e 6, a maior concentração se deu no quadrante leste com 4.541 e 3.712 espécimes (Figura 10), respectivamente, recuperados durante o levantamento e, na planta 5, o maior número de insetos fitófagos recuperados foi no quadrante sul, com 4.535 espécimes.

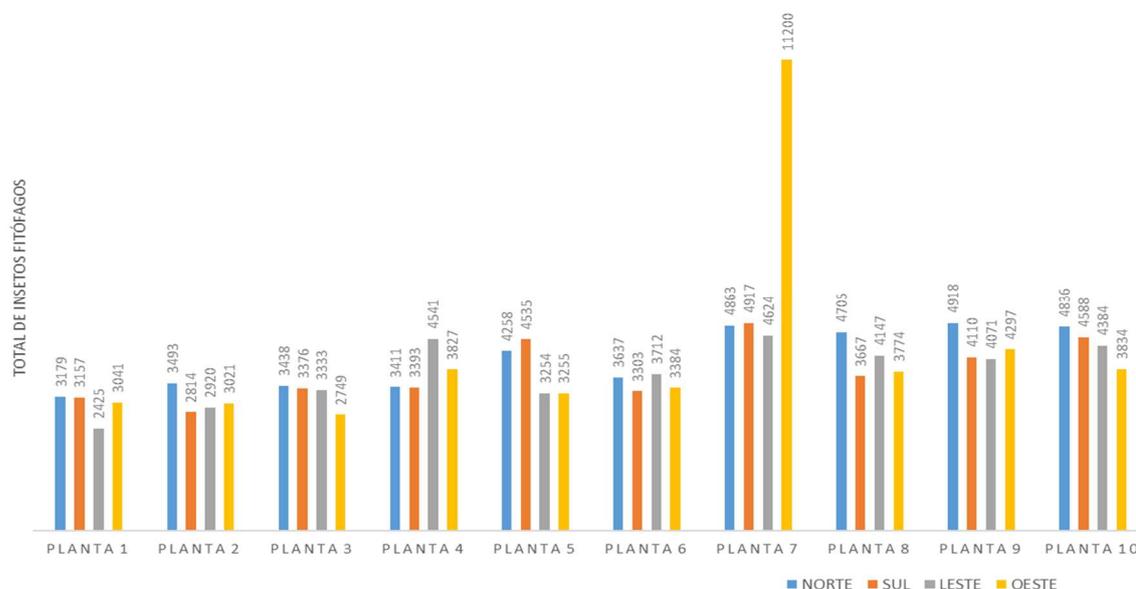


Figura 10. Total de aleirodódeos e cochonilhas recuperados na Área 01, representada por pomar comercial de lima ácida ‘Tahiti’ (*C. latifolia*) localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo e coletados entre junho de 2015 e junho de 2017.

Na área 2, foram contabilizados 98.585 insetos (cochonilhas e aleirodódeos) distribuídos em 6.120 folhas, com média de 16,10 insetos/folha. O quadrante norte apresentou maior concentração de insetos quando comparado aos outros quadrantes, totalizando 24.662 espécimes (Figura 11). Nas plantas 2 e 7 o quadrante sul apresentou maior concentração de aleirodódeos e cochonilhas, somando 7.877 espécimes (Figura 11). Em estudo realizado por Raga et al. (2012), em laranja doce, o quadrante sul apresentou maior número de ovos de *A. woglumi* quando comparado aos demais quadrantes.

O pomar orgânico apresentou maior densidade populacional de insetos fitófagos, diferindo do obtido por Duarte et al. (2012), onde observaram maior densidade populacional de insetos fitófagos em pomares de goiaba em cultivo convencional.

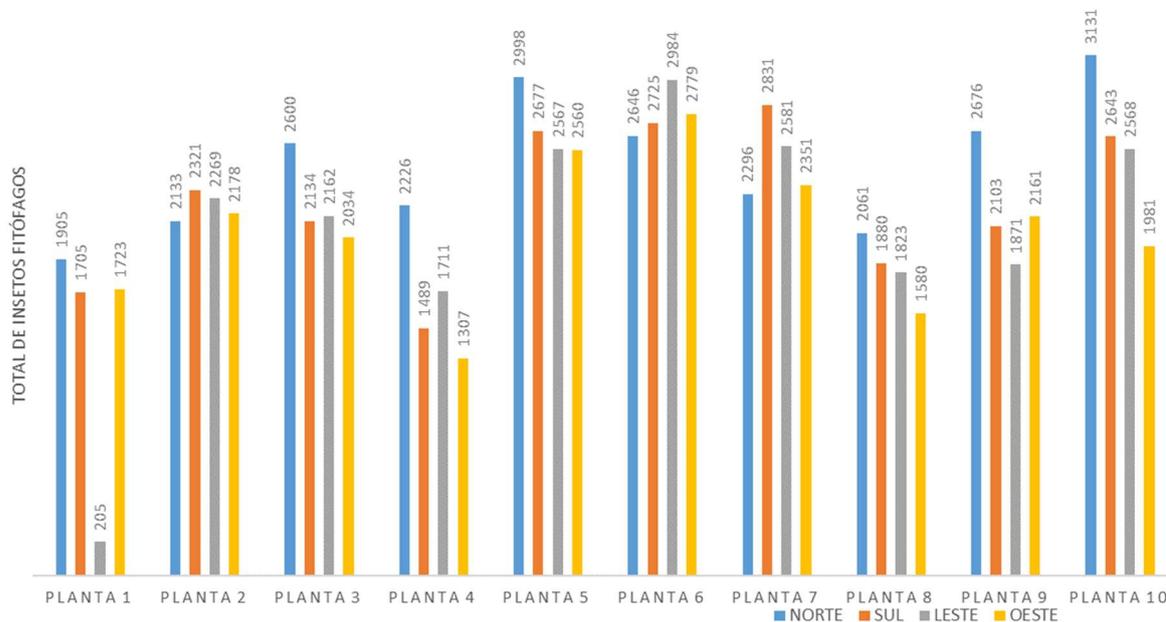


Figura 11. Total de insetos fitófagos (aleirodídeos e cochonilhas) recuperados na Área 02, em pomar comercial de lima ácida ‘Tahiti’ (*C. latifolia*) localizado no município de Mogi-Mirim, São Paulo, no período entre junho de 2015 e junho de 2017.

5.1.2. Diversidade populacional

5.1.2.1. Índice de Shannon-Weaver

O índice de Shannon-Weaver considera igual o peso relativo entre as espécies raras e abundantes, onde quanto maior for o valor de H' , maior será a diversidade da população em estudo. No presente trabalho, a maior diversidade de espécies dos insetos fitófagos ocorreu na Área 02 (transição para sistema de produção orgânica), onde $H'= 4,8$. Na Área 01 (produção orgânica) o índice foi de 0,97.

Na Área 01 a diversidade de aleirodídeos calculada pelo índice de Shannon ($H'= 0,32$) foi menor do que a de cochonilhas, onde $H'= 0,65$. Esses valores diferem daqueles obtidos na Área 02, onde $H'= 5,58$ para os aleirodídeos e $H'= 0,78$ para cochonilhas.

O índice geral de diversidade nas duas áreas (em conjunto) e durante os dois anos de avaliação foi de $H'= 1,1$, onde a diversidade de aleirodídeos ($H'=0,30$) foi superior à de cochonilhas ($H'= 0,11$). Resultado esse superior ao obtido por Rodrigues et al. (2009). Que ao

avaliar a diversidade de insetos sugadores em tangerina ‘Poncã’ obteve índice $H' = 0,872$. No mesmo estudo, esses autores obtiveram $H' = 0,5$ para aleirodídeos e $H' = 0,62$ para cochonilhas.

5.1.2.2. Diversidade populacional de aleirodídeos

No período de junho de 2015 a junho de 2017 foram registradas quatro espécies de aleirodídeos (Tabela 1) em lima ácida ‘Tahiti’ (*C. latifolia*) no município de Mogi-Mirim (SP), a saber: *Dialeurodes citri* (Ashmead), *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), *Paraleyrodes* spp. e *A. woglumi*.

Tabela 1. Diversidade (%) de aleirodídeos recuperados em pomares comerciais de lima ácida 'Tahiti' (*C. latifolia*) orgânico e sob transição (área 01 e 02, respectivamente), localizados no município de Mogi-Mirim, São Paulo, no período entre junho de 2015 e junho de 2017.

Família/Espécie	Área 01	Área 02	Total
Aleyrodidae			
<i>Aleurocanthus woglumi</i>	70,042	64,090	67,762
<i>Paraleyrodes</i> spp.	1,548	1,365	1,478
<i>Dialeurodes citri</i>	0,010	0,021	0,014
<i>Aleurothrixus floccosus</i>	0,092	0,174	0,123

5.1.2.3. Diversidade populacional de cochonilhas

No período de junho de 2015 a junho de 2017 ocorreram 16 espécies de cochonilhas pertencentes a cinco famílias em lima ácida ‘Tahiti’ (*C. latifolia*) no município de Mogi-Mirim (SP): 09 Diaspididae, 04 Coccidae, 01 Ohteziidae, 01 Monophlebidae e 01 Pseudococcidae (Tabela 2) (Figura 12).

Tabela 2. Diversidade (%) de cochonilhas recuperadas em pomares comerciais de lima ácida 'Tahiti' (*C. latifolia*) orgânico e sob transição (área 01 e 02, respectivamente), localizados no município de Mogi-Mirim, São Paulo, no período entre junho de 2015 e junho de 2017.

Família/Espécie	Área 01	Área 02	Total
Coccidae			
<i>Ceroplastes spp.</i>	0,002	0,008	0,004
<i>Coccus viridis</i>	0,046	0,137	0,081
<i>Saissetia spp.</i>	0,037	0,105	0,063
<i>Protospulvinaria pyriformis</i> (Cokerell)	0,008	0	0,005
Diaspididae			
<i>Cornuaspis beckii</i>	1,025	0,505	0,821
<i>Crysothrips aonidium</i>	0,583	0,482	0,542
<i>Lepidosaphes gloverii</i>	0,830	0,389	0,662
<i>Mycetaspis personata</i>	0,066	0,131	0,091
<i>Parlatoria cinerea</i>	0,018	0,060	0,034
<i>Parlatoria ziziphi</i>	16,288	19,544	17,538
<i>Pinnaspis aspidistrae</i>	7,065	1,721	5,015
<i>Selenaspis articulatus</i>	0,585	0,790	0,664
<i>Unaspis citri</i>	0,254	0,182	0,226
Monophlebidae			
<i>Icerya purchasi</i>	0,004	0	0,003
Ortheziidae			
<i>Praelongorthezia praelonga</i>	1,445	9,886	4,684
Pseudococcidae			
<i>Planococcus citri</i>	0,079	0,407	0,205

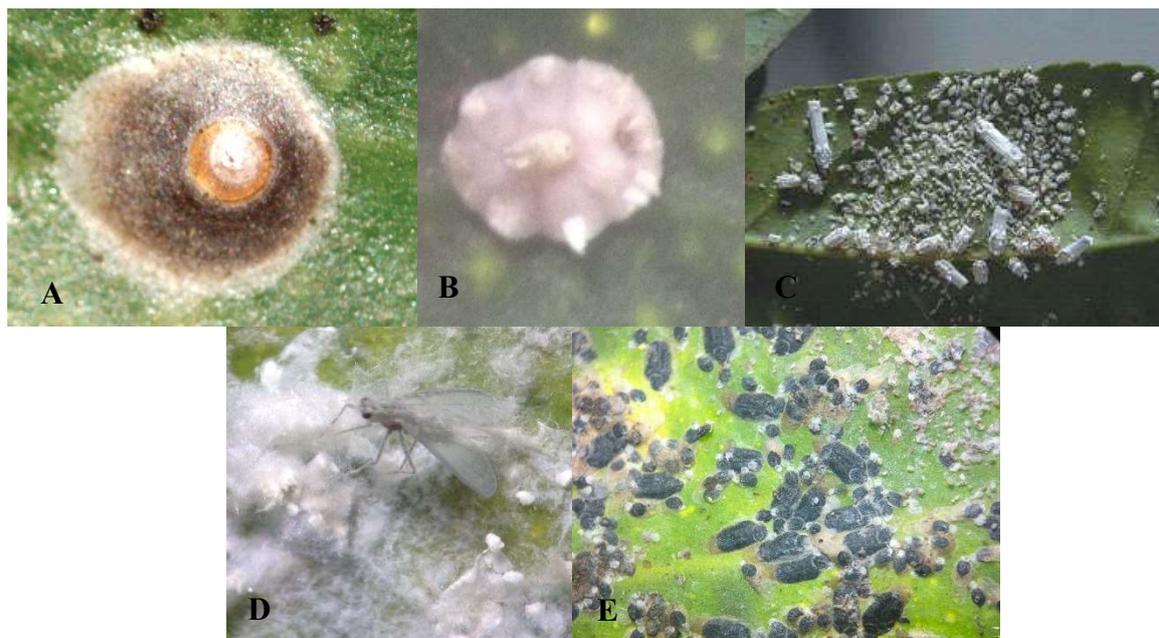


Figura 12. A- *Chrysomphalus aonidium* (Foto: Imperato, R.). B – *Ceroplastes* spp. (Foto: Imperato, R.). C- *Praelongortheziapraelonga* (Foto: Imperato, R.). D – Macho de *P. praelonga* (Foto: Imperato, R.). E – *Parlatoria ziziphi* (Foto: Imperato, R.).

5.3. Flutuação populacional

5.3.1. Aleirodódeos

Nas duas áreas estudadas o inseto fitófago de maior ocorrência foi a mosca-negra-dos-citros, com um total de 174.133 insetos coletados, representando 67,76% do total de aleirodódeos e cochonilhas coletados durante o estudo. Sendo os meses de abril e outubro de maior incidência do inseto. Raga et al. (2016) observaram maior incidência de ovos da mosca-negra-dos-citros na primavera (agosto) e de ninfas entre os meses de março a maio.

Os picos populacionais de *A. woglumi* ocorreram com em períodos de baixa precipitação (mm) (Figuras 13 e 14). Resultado esse semelhante ao obtido por Imperato (2014), que ao avaliar a flutuação populacional da mosca-negra-dos-citros em tangerina ‘Poncã’ observou redução no número de posturas da mosca-negra-dos-citros em períodos de maior precipitação. Maia (2008) observou que chuvas intensas estão relacionadas à diminuição da população de *A. woglumi*, pois é um importante fator para mortalidade dos adultos, além de favorecer a alta proliferação de entomopatógenos.

Na Área 01, em setembro de 2016 (Figura 13), após um período de precipitações, foi observado um aumento da incidência da mosca-negra-dos-citros, devido as novas brotações e maior crescimento vegetativo nas plantas de lima ácida ‘Tahiti’, tornando a planta propícia para

alimentação e oviposição de *A. woglumi*. Dengel (1981), relatou que a presença de brotações durante ou após períodos chuvosos poderia favorecer a multiplicação dessa espécie.

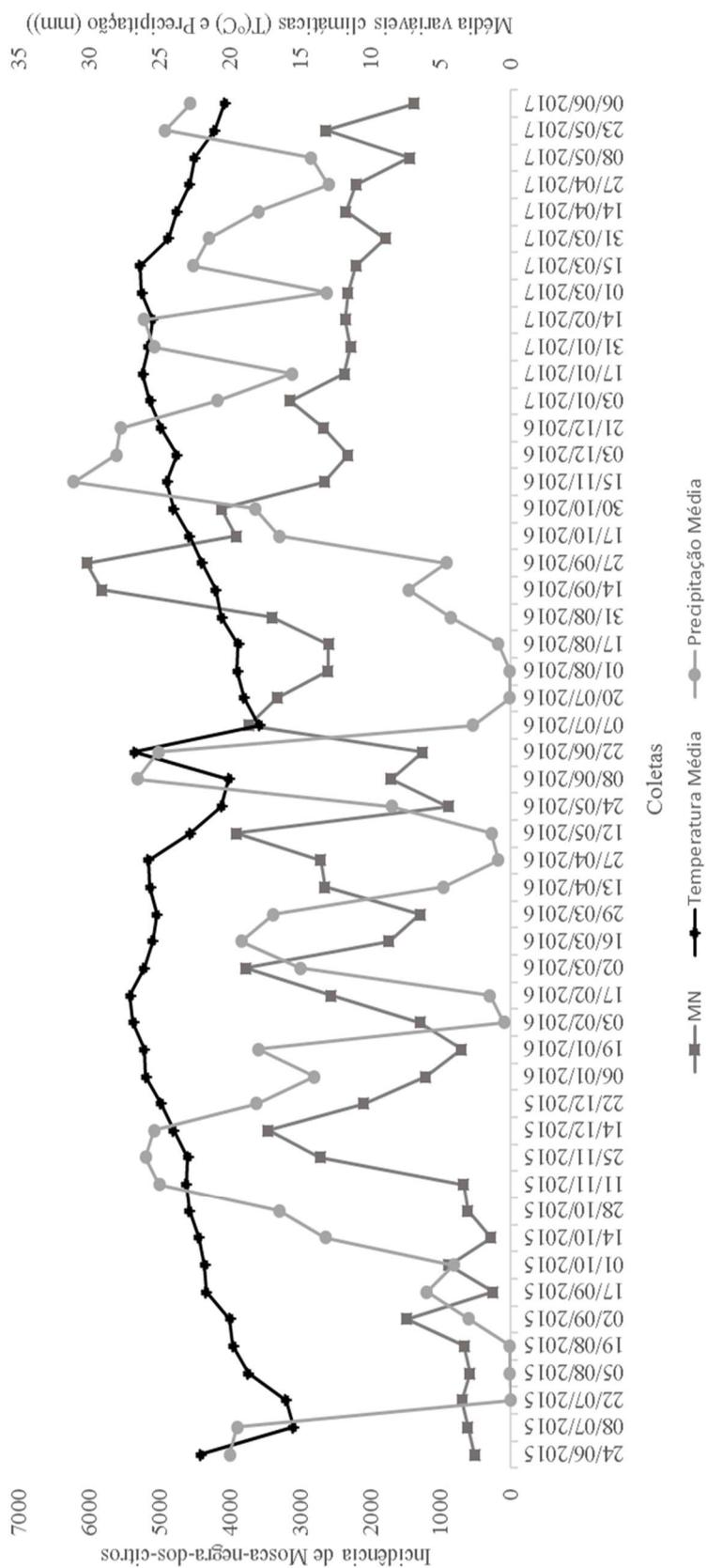


Figura 13. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros (*A. woglumi*) em pomar orgânico (Área 01) de lima ácida 'Tahiti' localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo, no período de junho de 2015 a junho de 2017

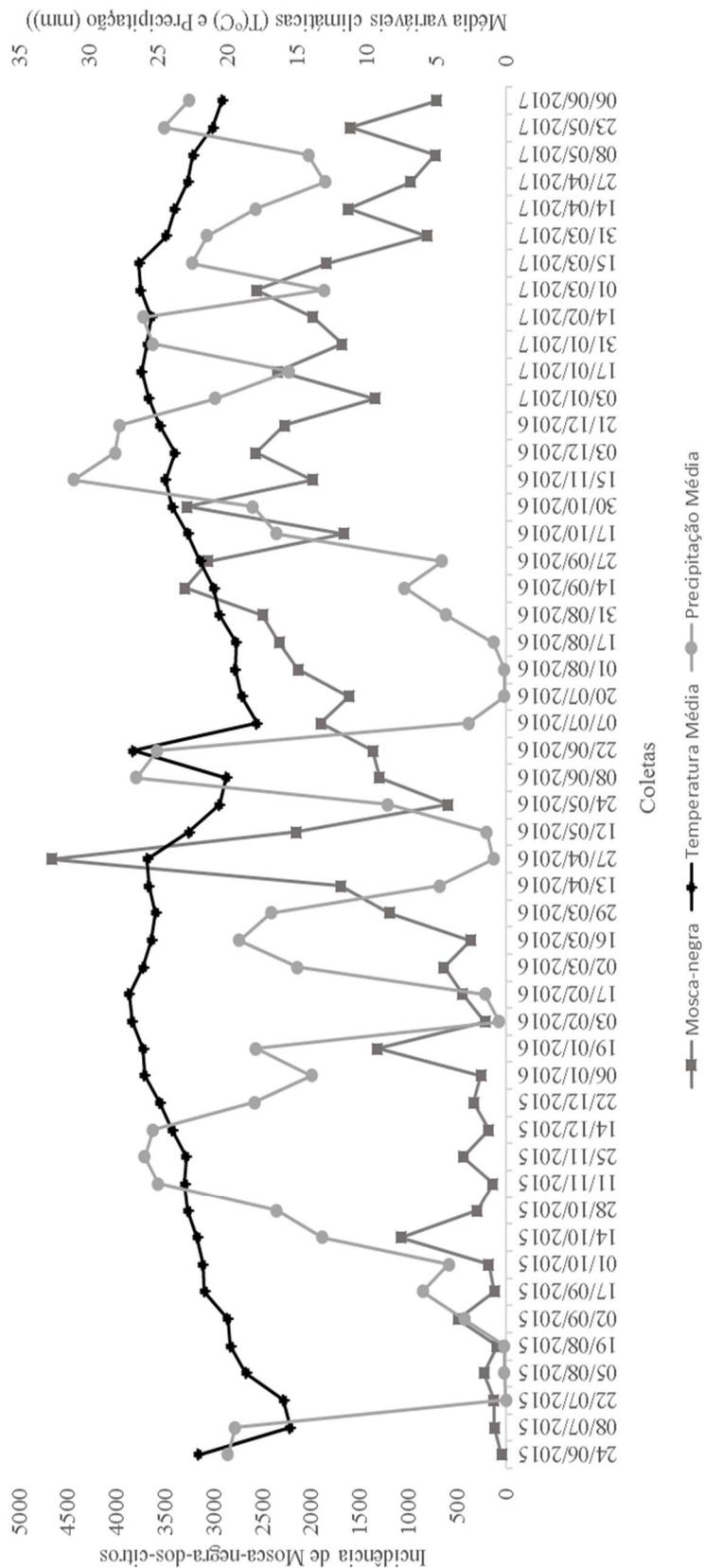


Figura 14. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros (*A. woglumi*) em pomar em transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’ no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo,

Entre os aleirodídeos, a segunda maior incidência foi de *Paraleyrodes* spp., com 3.798 espécimes recuperados, representando 1,47% do total de fitófagos e com maior ocorrência entre setembro e outubro de 2015 (Figura 15 e Figura 16).

Os picos populacionais de *Paraleyrodes* spp. foram registrados nos períodos de menor precipitação, podendo indicar que a chuva interfere negativamente na população dessa espécie, fato esse observado no mês de março de 2016 (Figura 15 e Figura 16), quando ocorreu um aumento na precipitação.

Fator abiótico chave, a precipitação pluviométrica atua como agente de regulação natural de aleirodídeos, exercendo ação principalmente na mortalidade de adultos, além de favorecer um microclima propício para ação dos entomopatógenos (MEDEIROS et al., 2009; SILVA et al., 2011).

Não foram observadas interferências das temperaturas médias nos picos populacionais dos alierodídeos, pois, as mesmas encontraram-se dentro da faixa considerada ideal para o desenvolvimento dos insetos fitófagos, que segundo Oliveira et al. (1999) encontra-se entre 20-36°C.

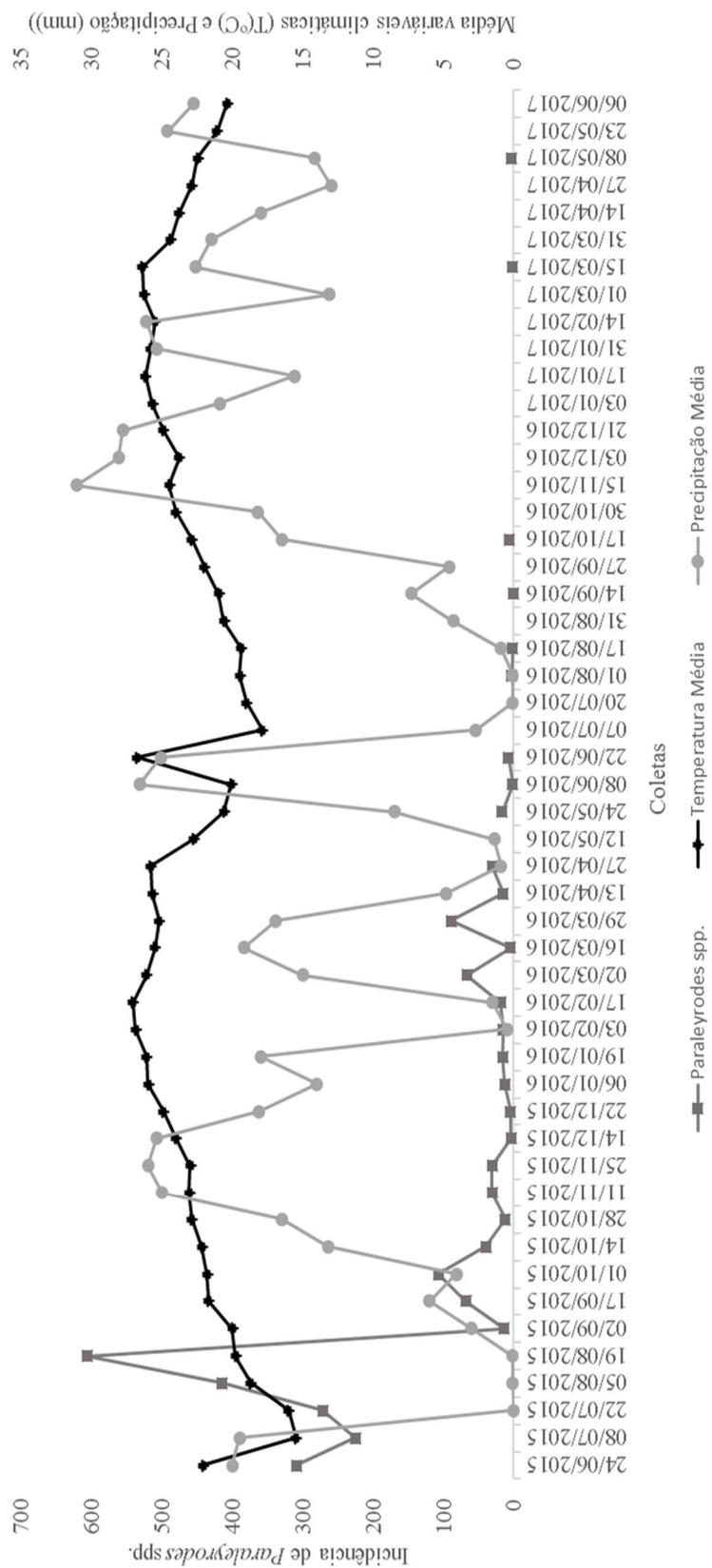


Figura 15. Ocorrência da mosca branca *Paraleyrodos* spp. em pomar em orgânico (Área 01) de lima ácida 'Tahiti' no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo.

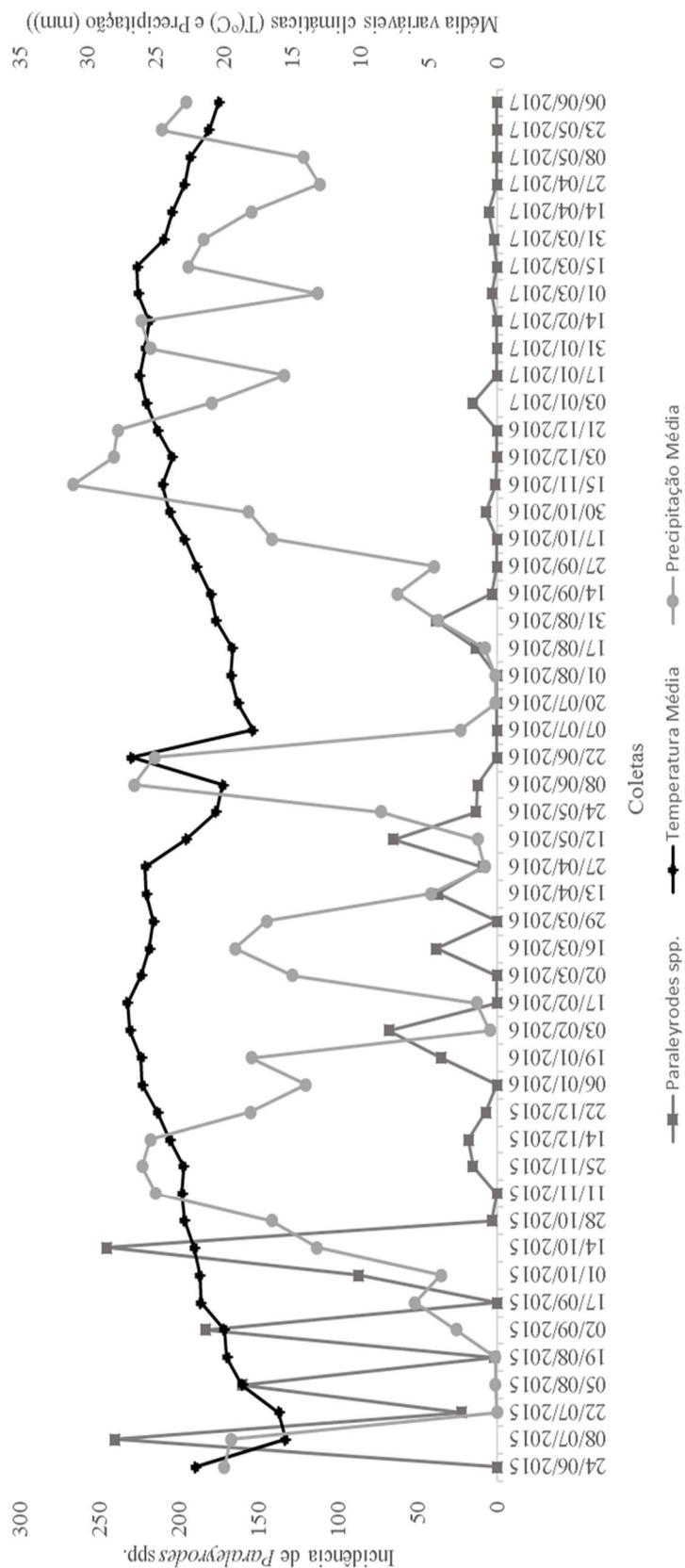


Figura 16. Períodos de maior ocorrência da mosca branca *Paraleyrodos* spp. em pomar sob transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’ no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo.

5.3.2. Cochonilhas

Foram recuperados 45.069 espécimes de parlatoria preta (*P. ziziphi*) durante o período de realização do trabalho, correspondendo a 17,5% do total de insetos fitófagos avaliados. No período de setembro a dezembro de 2016 houve as maiores incidências da praga.

A precipitação não interferiu negativamente na incidência desse inseto, uma vez que foram observadas altas ocorrências em períodos com alta incidência de chuva (Figura 17 e Figura 18). Porém, após os períodos chuvosos foi verificada queda na incidência da parlatoria preta, a qual pode estar relacionada ao aumento da incidência dos fungos entomopatogênicos, potenciais agentes de controle biológico da praga. Yamamoto et al. (2001), concluiu que houve maior população de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) no período de maiores precipitações em pomares citrícolas no Estado de São Paulo.

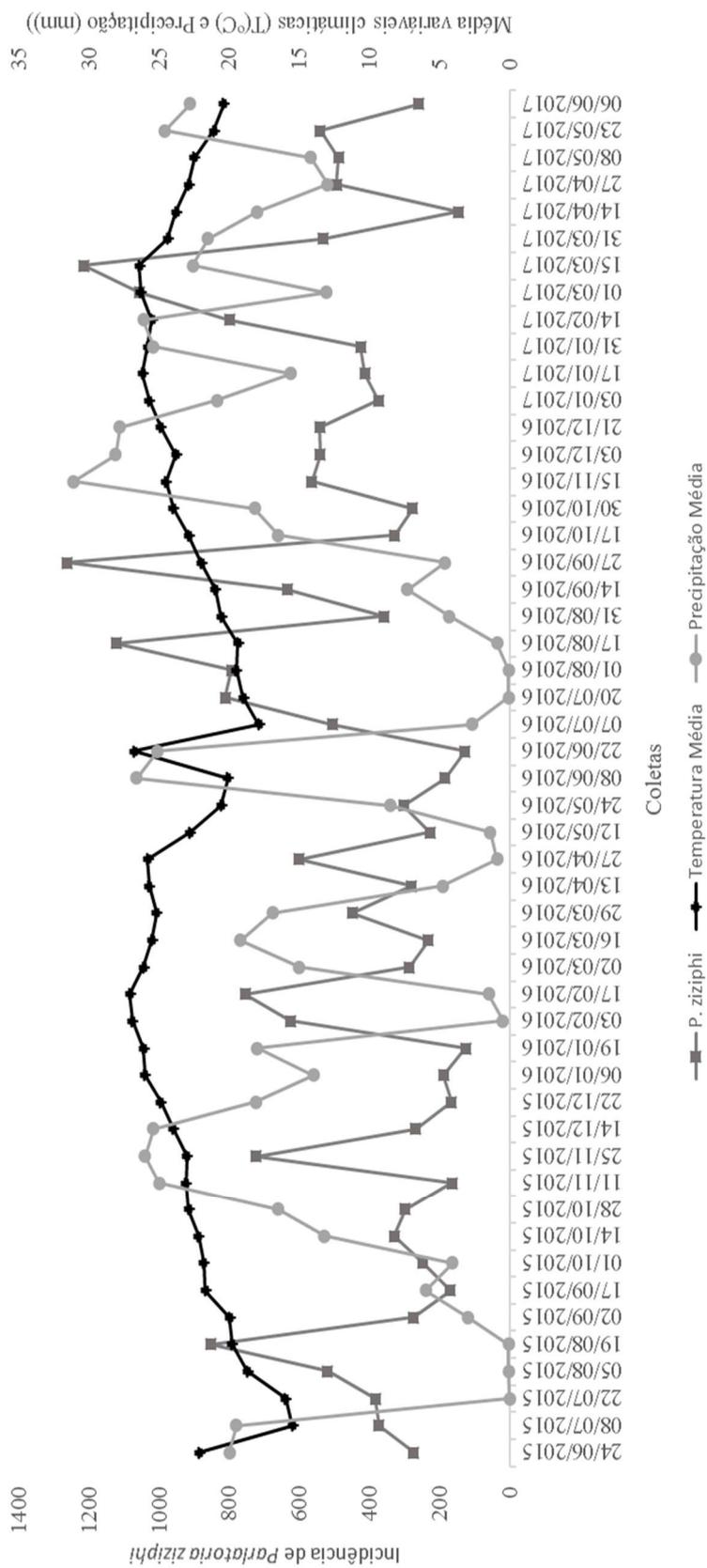


Figura 17. Ocorrência da *Parlatortia ziziphi*, em pomar orgânico (Área 01) de lima ácida ‘Tahiti’, no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo

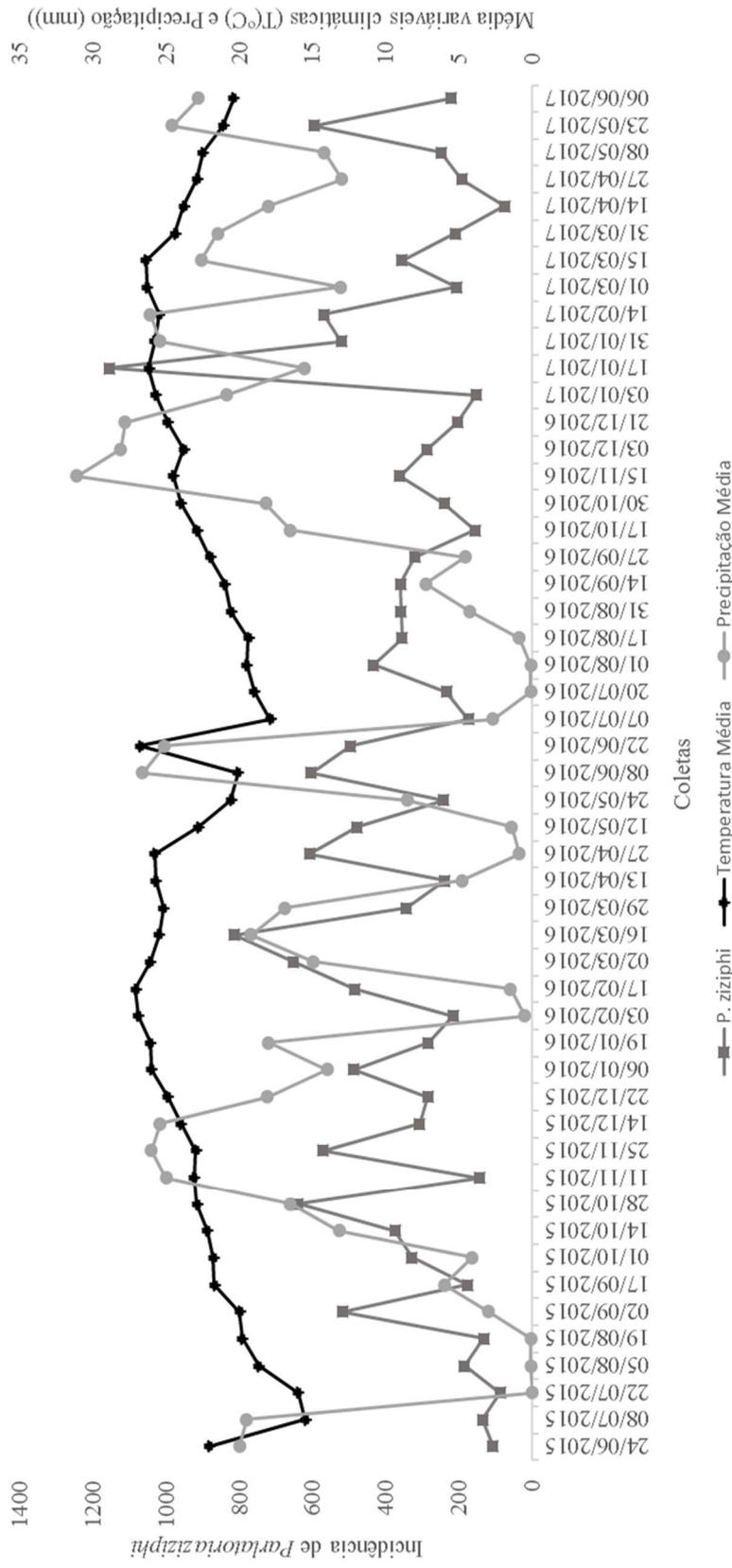


Figura 18. Ocorrência da *Parlatoria ziziphi*, em pomar sob transição para orgânico (Área 02) de lima ácida ‘Tahiti’, no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo

Praelongorthezia praeolonga correspondeu a 4,6% dos insetos fitófagos recuperados durante o período de estudo, totalizando 12.036 espécimes. Seus picos populacionais foram nos meses de março e abril de 2016 (Figura 19 e Figura 20). A queda do número desses insetos ocorreu nos meses de janeiro e março de 2016 e março de 2017, após períodos de precipitação elevada (Figura 19 e Figura 20). Essa redução populacional pode estar associada ao aumento da incidência dos fungos entomopatogênicos também à chuva, que provocada a mortalidade dos adultos, ovos e ninfas.

Viègas et al. (1995), ao avaliarem a patogenicidade dos fungos *Beauveria bassiana*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Metarhizium anisopliae* em ninfas de segundo e terceiro instar de *P. praeolonga*, observaram que os dois primeiros são os mais promissores para o controle desse inseto.

O fungo *Aschersonia aleyrodis* ataca cochonilhas e as moscas brancas *Dialeurodes citri* e *Dialeurodes citrifolli*. O fungo coloniza a fase imóvel dessas pragas, deixando-as com coloração roséa-avermelhada (ALVES et al., 2001).

Prates (1980), durante observações realizadas em pomares comerciais de citros, relatou a ocorrência dos fungos *C. gloeosporioides*, *Verticillium lecanii* e *Cladosporium herbarum* var. *aphidicola* em *P. praeolonga*.

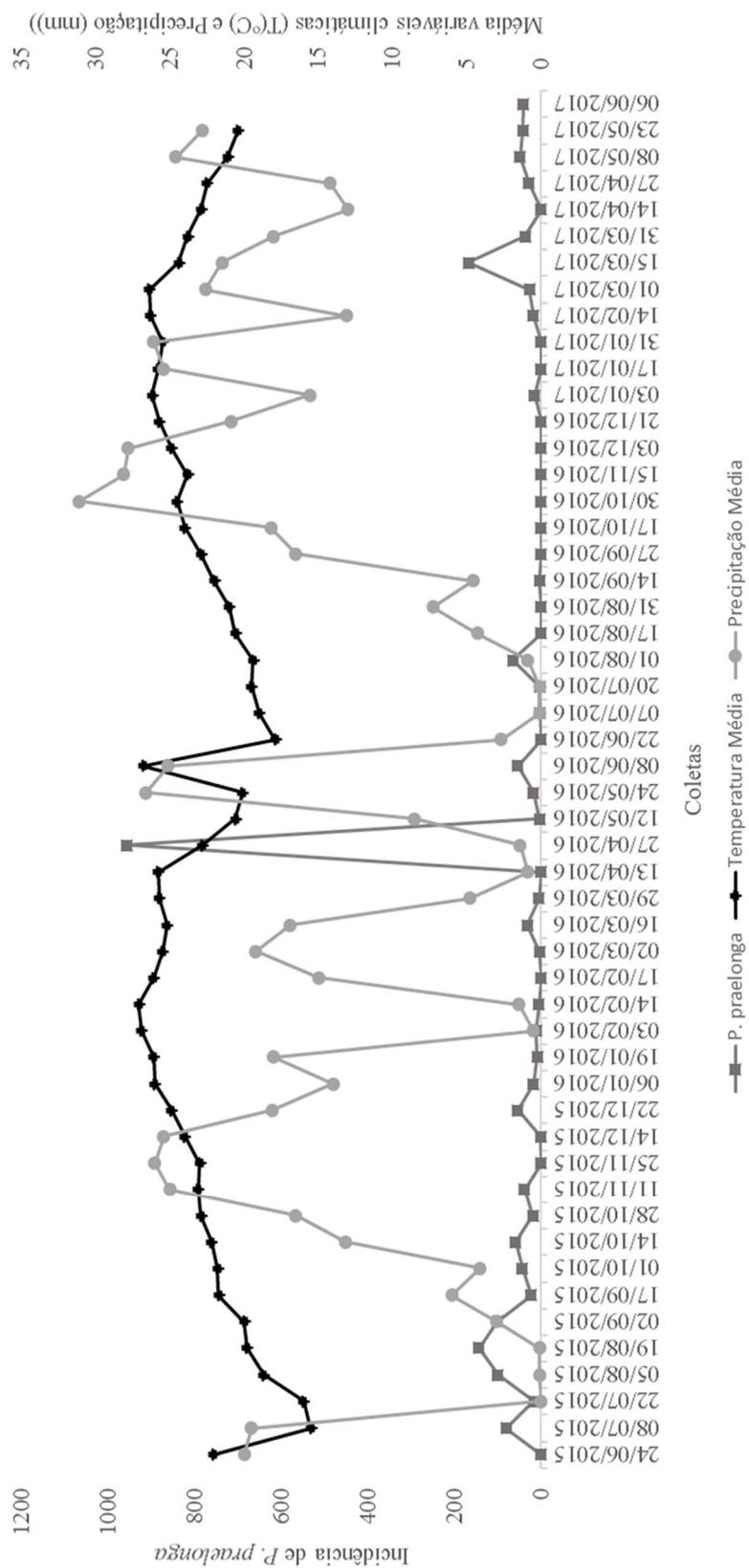


Figura 19. Ocorrência da *Praelongorthezia praelonga*. em pomar orgânico (Área 01) de lima ácida ‘Tahiti’ no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo,

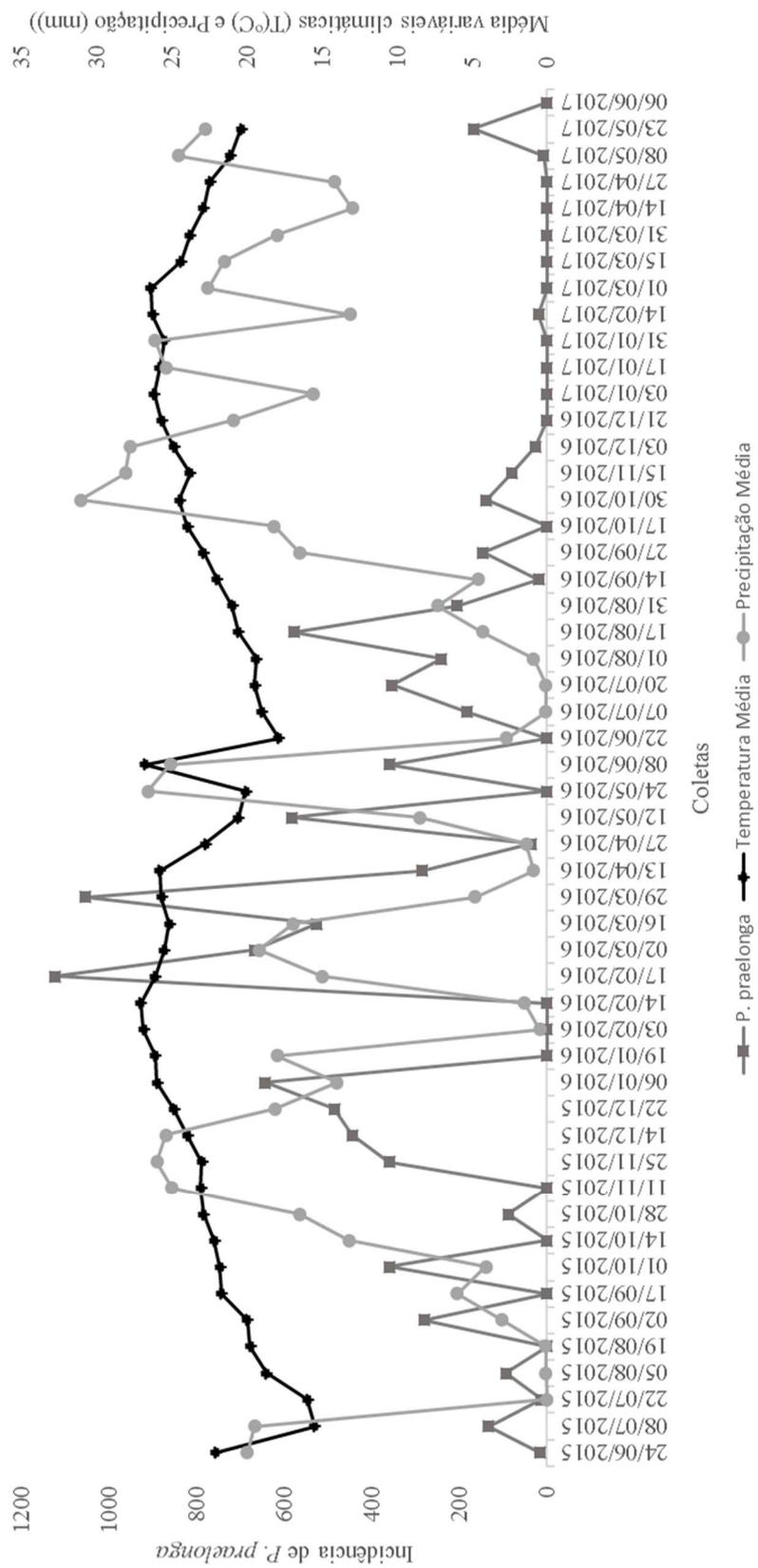


Figura 20. Ocorrência da *Praelongorthezia praelonga*, em pomar em transição para orgânico (Área 02) de lima ácida 'Tahiti' no período de junho de 2015 a junho de 2017, localizado no município de Mogi-Mirim, estado de São Paulo,

5.4. Índice de parasitismo

Nas duas áreas de estudo foram recuperadas pupas e ninfas de terceiro e quarto instar dos insetos fitófagos avaliados, que apresentavam sintoma de emergência de parasitoide. Esse sintoma é caracterizado por um orifício circular localizado na parte superior das fases imaturas de cochonilhas e aleirodídeos, com exceção da mosca-negra-dos-citros. Neste caso, o orifício de emergência fica localizado na superfície inferior das ninfas de terceiro instar, e pode ser confirmado pelos vestígios de pupa do parasitoide encontrados nos insetos hospedeiros.

Na área 1, foram recuperadas 522 formas imaturas de insetos fitófagos com sintoma de emergência de parasitoide, valor esse que corresponde a 0,20% do valor total de insetos recuperados nessa área, sendo que na planta 7 obteve-se o maior número de fases imaturas com sintoma de parasitoides.

Na área 2, foram recuperadas 547 formas imaturas de cochonilhas e aleirodídeos com sintoma de emergência de parasitoide, valor que corresponde a 0,21% do número total de insetos fitófagos recuperados na área, sendo que na planta 1 obteve-se o maior número de pupas e ninfas com sintoma de parasitoides.

Na área 1, foram recuperadas 130 fases imaturas de insetos fitófagos com pupas de parasitoides presentes em seu interior, o que corresponde a 0,08% do número total de espécimes recuperados nessa área. A maior taxa de parasitismo encontrada na planta 5 com 23 pupas parasitadas, correspondendo a 0,15% do número total de insetos fitófagos obtidos nessa planta.

Na área 2, foram obtidas 99 fases imaturas de cochonilhas e aleirodídeos com pupas de parasitoides presentes em seu interior, valor correspondente a 0,10% do número total de insetos fitófagos recuperados nessa área. A maior taxa de parasitismo foi encontrada na planta 5 com 27 pupas parasitadas, correspondendo a 0,25% do número total de insetos fitófagos recuperados nessa planta. Resultado esse que difere do obtido por Duarte et al. (2012), onde o maior número de inimigos naturais foi recuperado em pomares orgânicos.

A manutenção desses inimigos naturais pode estar ligada à presença de plantas daninhas nas entrelinhas dos talhões, aliado à ausência de aplicações de inseticidas nas duas áreas.

5.5. Diversidade de parasitoides

5.4.1. Caracterização morfológica das morfoespécies de *Encarsia*

Nos himenópteros parasitoides, geralmente, uma espécie é descrita baseando-se em exemplares fêmeas, por serem mais comuns, sendo que algumas espécies possuem apenas fêmeas. As características de suas antenas e ovipositor têm grande valor taxonômico, ou seja, são usadas para separar espécie. Em alguns grupos ocorre o inverso, as fêmeas não têm características que possibilitem a distinção de espécies, mas a genitália masculina sim. Ocorre, por exemplo, em alguns exemplares da família Trichogrammatidae e Eulophidae (VALMIR ANTONIO COSTA – Informações pessoais).

Foram recuperados 18 indivíduos do gênero *Encarsia* parasitando ninfas de mosca-negra-dos-citros. Esse gênero de parasitoide já havia sido recuperado em estudo realizado na mesma região por Imperato (2014). Cada exemplar adulto recuperado foi comparado com as descrições das chaves de identificação disponíveis, onde, não foi possível realizar a identificação específica. Sendo assim, os espécimes foram separados em quatro morfoespécies que apresentaram características distintas:

Morfoespécie 01: Fêmea de coloração amarela com T1 e T2 marrom; ovipositor do tipo estilete conforme descrição de Polaszek, Manzari e Quicke (2004); ovipositor maior que a soma do basitarso com a tíbia; tarso da perna mediana com 05 segmentos; acima da sutura frontofacial apresenta coloração amarelada e abaixo dessa sutura a coloração é branca; a antena apresenta de 0-1 sensilo apenas em F3, em F1, F2, C1, C2 e C3 sensilos são inexistentes; asa sem área acetosa; escutelo com sensilas placoides provixas; ápice da célula costal com seta longa; quatro setas no tegumento na altura do ovipositor; proporção 1:1 esporão da miditibia e basitarso. Apresenta similaridades com o grupo *Strenua*, complexo *citrella*.

Morfoespécie 02: Fêmea de coloração amarela com T1 marrom; antena e asa semelhante as da morfoespécie 01; tarsos com cinco segmentos; três pares de seta no mesoescuto; terceira válvula alongada; a antena apresenta de 0-2 sensilos apenas em C1, em F1, F2, F3, CS e C3 os sensilos são inexistentes; ovipositor 1,4 vezes maior que a miditibia; esporão é 0,9 vezes o comprimento do basitarso e constrição na célula costal. Apresenta similaridades com o grupo *Strenua*, mas não com o complexo *Citrella*.

Morfoespécie 03: Macho.

Morfoespécie 04: Fêmea, amarela, com propódeo e T1 marrons.

Nas duas áreas, foram recuperados quatro exemplares da morfoespécie 01, três exemplares da morfoespécie 02, oito exemplares da morfoespécie 03 e três exemplares da morfoespécie 04.

5.4.2. Análise molecular de *Encarsia*

Duas das quatro morfoespécies recuperadas tiveram seu DNA sequenciado através do uso da região D2 da 28S rDNA e COI do genômico, sendo essas as morfoespécies 03 e 04. As morfoespécies 01 e 02, devido seu tamanho diminuto, o material genético disponível não foi suficiente para realização da extração e, posteriormente, amplificação.

As sequencias finais obtidas pelo alinhamento da região COI e 28S das duas morfoespécies foram idênticas, consistindo em 733 pares de base. Sendo essas: 'TTTCACATATAATTAATAATGAAAGTATAAAAAAGAAATTTTTGGAGTTATAG GAATAATTTATGCAATAATTTCAATTGGTTTATTAGGATTTATTGTTTGAGCCCAT CATATATTTACAATTGGAATGGATGTCGATACTCGAGCCTATTTACTTCTGCAAC AATAATTATTGCCATTC AACAGGTATCAAAATTTTTAGTTGACTTGCTTCTATAA ATGGTAGAAAAATTTATTTTTCGGTCTCTAATTTATGATTATTAGGATTTATTTTT TATTTACAGTAGGGGGTTTAACTGGTATTATACTTTCAAATTCTTCTATTGATATC GTGTTGCATGACACTTACTATGTAGTAGCTCATTTTCATTATGTTTTATCTATAGG AGCTGTTTTTGCAATTTTTGGAAGTTTTATTTATTGATTTCTATTATATCTGGTGT AAATTTAAATCAAAAATGACTTAAAATTCAATTTTTTCTTATATTTTTAGGAGTAA ATTTAACTTTTTCCCTCAGCATTTTTTAGGGTTAAGAGGTATACCTCGACGTTAT TCAGATTACCCTGATTCGTATTTATGTTGAAATTTATTTTCTTCTATTGGTTCTTTA ATTTCTTTGATTAGAACTTTATTATTTTTCTTTATTATTTGAGACGGAATTATGTCA ATTCGTATTATTATTTTTATGAAAAATATAAATAATTCTATTGATTTATTAATGAA TTA'

Após submeter a sequência resultante da extração e amplificação do DNA das morfoespécies 03 e 04 à comparação com as sequências já depositadas no banco de dados do Genbank, não foram encontradas similaridades acima de 90% entre elas, indicando se tratar de uma espécie nova ou de uma espécie já descrita, mas que ainda não foi sequenciada. Por se tratar de um macho (morfoespécie 03) e uma fêmea (morfoespécie 04), as duas morfoespécies representam uma única espécie de *Encarsia*.

Polaszek, Manzari, Quicke, (2004), através da amplificação da região DS do 28S rDNA, concluiu a inexistência de relação filogenética entre as espécies por ele estudadas quando comparadas aquelas estudadas por Babcock et al. (2001). Afirmam ainda aqueles autores, que o uso da análise molecular associada a morfometria de espécies de difícil identificação taxonômica resultou na solução de quase todos os problemas de identificação de *Encarsia*, sendo as três espécies estudadas em 2004 semelhantes entre elas e diferentes de outras já analisadas.

5.6. Avaliação das etapas de beneficiamento pós-colheita relacionadas as mudanças na qualidade dos frutos, incidência de distúrbios fisiológicos e ocorrência de doenças pós-colheita

Caracterização inicial dos frutos (Tabela 3):

Tabela 3. Caracterização inicial dos teores de sólidos solúveis (SS), acidez total (AT), porcentagem de suco (%), pH e índice de cor (IC) dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’ coletados entre agosto e outubro de 2018, provenientes de três regiões distintas do estado de São Paulo (Lote 1 = Jales; Lote 2 = Itajobi e Lote 3 = Mogi-Mirim).

Etapas de Beneficiamento pós-colheita		SS	AT	Suco	pH	IC
		°Brix	(g ácido cítrico/100g)	(%)		
Lote I	Descanso (24h)	10,36	6,54	43,97	2,70	- 8,77
	Cera/Embalagem	10,2	6,15	32,10	2,69	- 6,94
Lote II	Descanso (24h)	10,4	5,59	49,73	2,64	- 4,8
	Cera/Embalagem	9,54	5,65	43,81	2,61	- 5,42
Lote III	Descanso (24h)	8,44	5,39	38,39	2,63	- 7,48
	Cera/Embalagem	9,04	5,84	46,15	2,60	- 8,80
Média - Descanso		9,73	5,84	44,03	2,65	-7,01
Média – Cera/Embalagem		9,59	5,88	40,68	2,63	-6,95

A coloração verde da casca de lima ácida ‘Tahiti’ foi influenciada pelas etapas de beneficiamento na casa de embalagem, uma vez que ao longo do período de armazenamento os valores do índice de cor apresentaram incremento em todos os tratamentos. Os frutos que passaram pelo beneficiamento completo apresentaram resultados satisfatórios na manutenção da coloração verde quando comparados aos frutos que não receberam o beneficiamento completo (Figura 21). Ao longo do período de armazenamento, o índice de coloração dos frutos

submetidos à aplicação de cera apresentou menores valores de IC quando comparados com os frutos não tratados. Portanto, a aplicação de cera de carnaúba favoreceu a manutenção da coloração verde da casca. Resultados semelhantes foram observados por Jomori et al. (2003), onde foram testadas aplicações de ácido giberélico (GA), 1-MCP e cera onde, isoladamente ou em conjunto, reduziram a perda de coloração dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’.

Os frutos coletados nas etapas 05 e 06 (anteriores a cera), embora tenham recebido aplicação de ácido giberélico não apresentaram diferença significativa na coloração em relação aos frutos coletados nas etapas anteriores que não receberam tal aplicação (Tabela 4). O ácido giberélico age retardando a degradação da clorofila, do acúmulo de carotenoides e do amaciamento da casca, resultando na manutenção da coloração verde oliva da casca (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Porém, foi possível observar que quando aplicado em frutos submetidos ao processo de beneficiamento o efeito do etileno pode ser superior a ação do GA, pois após o fruto sofrer um dano físico, o etileno tem um aumento na sua taxa de produção. Em trabalho realizado por Biasi e Zanette (2000), a aplicação de GA foi eficiente para manutenção da coloração verde em lima ácida ‘Tahiti’. Em contrapartida, estudos realizados em lima ácida ‘Tahiti’ e tangerinas ‘Montenegrinas’ submetidas a danos físicos apresentaram alteração na coloração da casca mesmo após receber GA (DURIGAN et al., 2005; MONTERO et al., 2009; BASSAN et al., 2013).

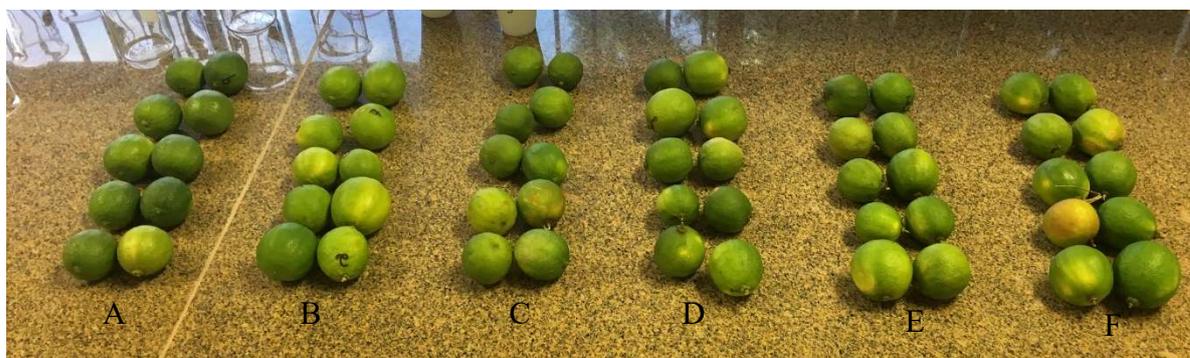


Figura 21 - Frutas de lima ácida ‘Tahiti’ provenientes de pomar comercial da região de Mogi-Mirim, São Paulo, após 30 dias de armazenamento a $8-10\pm 2^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. A – Etapa 07; B – Etapa 06; C – Etapa 05; D – Etapa 04; E- Etapa 03 e F – Etapa 02.

Os teores de sólido solúvel ($^{\circ}\text{Brix}$) e acidez titulável (AT) apresentaram alteração ao longo do tempo de armazenamento estudado (Tabela 4). Do ponto de vista comercial, segundo Gutierrez e Almeida (2005), a exigência mínima para comercialização de lima ácida ‘Tahiti’ é de $6,5^{\circ}\text{Brix}$. Portanto, o beneficiamento completo das frutas não prejudicou o teor de sólidos solúveis o suficiente para classificar a fruta como fora do padrão de comercialização.

Para acidez titulável, verificou-se que os frutos que passaram pelo beneficiamento completo apresentaram redução significativa na porcentagem de ácido cítrico quando comparado aos frutos que passaram apenas pelas etapas 1, 2, 3 e 5 do processo (Tabela 4). Esse resultado difere do estudo realizado por Bassan et al. (2016), onde a acidez titulável não sofreu alterações significativas em função das distintas etapas de beneficiamento.

Jomori et al. (2003), em estudos realizados com lima ácida ‘Tahiti’ também não observaram diferença significativa da acidez titulável após aplicação de cera de carnaúba. No entanto, Tamura et al. (2010), constataram redução no teor de sólidos solúveis dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidos ao beneficiamento e redução nos valores de acidez titulável nos frutos submetidos a danos por impacto.

A perda de massa fresca e o pH das limas ácidas ‘Tahiti’ não apresentaram diferenças significativas nas diferentes etapas do beneficiamento (Tabela 4). Apesar de receberem aplicação de cera de carnaúba, os frutos coletados após beneficiamento completo apresentaram perda de massa semelhante aos frutos que não receberam essa aplicação. Esse resultado pode estar relacionado ao fato desses frutos terem sido expostos à maior quantidade de injúrias mecânicas, quando comparados aos da recepção da unidade de beneficiamento. Segundo Bassan et al. (2013), as limas ácidas ‘Tahiti’ também apresentaram menor conservação da massa dos frutos quando submetidos à danos físicos.

Os frutos de lima ácida ‘Tahiti’ apresentaram incidência de diferentes doenças fúngicas pós-colheita e distúrbios fisiológicos. Os resultados do presente estudo confirmam a importância das doenças e distúrbios fisiológicos na pós-colheita em citros, uma vez que esses danos desqualificam a fruta para comercialização. Observou-se um aumento significativo na incidência de distúrbios fisiológicos e podridões fúngicas com o processamento dos frutos de lima ácida ‘Tahiti’ na linha de beneficiamento. Durante a seleção no *packinghouse* injúrias mecânicas são difíceis de serem visualizadas, mas ao longo do tempo, os locais injuriados se tornam escuros e encharcados, além de serem porta de entrada para patógenos como *Penicillium* spp. (BROWN; ECKERT, 1993, FISCHER et al., 2007).

Tabela 4. Teor de sólidos solúveis (SS), acidez titulável (AT), perda de massa (%), suco (%), pH e índice de coloração (IC) de limas ácidas 'Tahiti' submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita após 33 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR)

Etapas de Beneficiamento pós-colheita	SS	AT (g ácido cítrico/100g)	Perda de Massa		Suco (%)	pH	IC
			°Brix	(%)			
Recepção	10,64 b	6,00 b	13,88 a		46,17 ab	2,73 a	30 dias - 4,71 b 33 dias - 4,24 b
Lavagem	10,64 b	6,00 b	15,92 a		48,97 b	2,69 a	- 4,56 b - 3,83 b
Seleção	10,78 b	6,00 b	14,30 a		50,30 b	2,68 a	- 4,61 b - 4,46 ab
Sanitização	10,65 b	5,60 ab	16,24 a		47,57 ab	2,66 a	- 4,72 b - 3,89 b
Sanitização + Fungicida	10,52 ab	6,00 b	15,29 a		49,05 b	2,66 a	- 4,89 b - 4,33 b
Descanso (24h)	10,15 ab	5,60 ab	14,17 a		47,14 ab	2,66 a	- 4,61 b - 4,09 b
Cera/Embalagem	9,69 a	5,0 a	16,16 a		38,62 a	2,69 a	- 7,14 a - 6,44 a
CV%	3,10	5,57	30,23		7,62	3,61	- 12,92 - 15,63

Médias com letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Valores apresentados correspondem à média dos resultados obtidos após o período de armazenamento de 33 dias

A principal desordem fisiológica observada ao final do período de armazenamento foi a 'Peteca', a qual acometeu em média 10,65% dos frutos, tendo maior incidência após 30 dias de armazenamento nas etapas de lavagem (14%), seleção (14%) e aplicação de cera (12%) (Tabela 5 e 6). O aparecimento da 'Peteca' é mais comum em limão siciliano (*Citrus limon* Osbeck) e é caracterizada como mancha cinzenta devido ao escurecimento das glândulas de óleo, circular e deprimida na superfície do fruto (Palacios, 2005).

A incidência desse distúrbio fisiológico está relacionada com as baixas temperaturas associadas com alta umidade relativa e, também, acomete principalmente os frutos localizados no interior da planta, onde as temperaturas são mais amenas e o local mais úmido, tornando a fruta mais suscetível ao distúrbio. Em estudo realizado por Duarte e Guardiola (1995) e Undurraga et al. (2006), foi observado que houve um aumento nos sintomas de peteca nos frutos que receberam aplicação de óleos e foram armazenados em ambiente frio e úmido. Também observaram que tais sintomas foram mais frequentes em frutos com coloração amarelada. Ainda, segundo Palacios (2005), esse distúrbio se desenvolve durante o armazenamento, fato esse que pode explicar a baixa incidência no sétimo dia de armazenamento (2,18%) quando comparado ao período final de armazenamento.

Do ponto de vista nutricional, a ocorrência de peteca é ocasionada pela alta relação Ca/K na casca do limão (GÓMES UGARTE, 1984).

Ao final do período de armazenamento foi possível observar maior incidência de oleocelose (12,7%) (Tabelas 5 e 6) na etapa 04, quando os frutos ficaram em imersão por 2 minutos. Essa incidência está diretamente relacionada com a elevada turgescência dos frutos. As limas ácidas 'Tahiti' coletadas na etapa de "recepção" apresentaram a menor incidência de oleocelose (2,7%) ao final do período de armazenamento, enquanto, aquelas onde foi realizado o beneficiamento completo a incidência desse distúrbio fisiológico acometeu 7,3% dos frutos. Um menor índice foi observado entre as etapas 05 e 07, pois na etapa 06 os frutos que já apresentaram algum sintoma são selecionados e descartados. Segundo Montero et al. (2012), esse distúrbio fisiológico ocorre devido ao rompimento das glândulas de óleo da casca das limas ácidas 'Tahiti' devido a fortes pressões e impactos. Fato esse que justifica menor ocorrência desse distúrbio nas frutas coletadas na "recepção".

A redução da oleocelose verificada nas etapas 02 e 03 (Tabelas 5 e 6), bem como a redução da podridão apical (Tabelas 5 e 6) na etapas 01, 02 e 03 do processo de beneficiamento entre o sétimo e trigésimo dia de armazenamento são justificadas devido ao aumento da incidência das doenças pós-colheita, as quais evoluíram e tomaram a superfície do fruto impossibilitando a

identificação dos danos fisiológicos já contabilizados na avaliação no sétimo dia de armazenamento.

Tabela 5; Incidência (%) de distúrbios fisiológicos em frutos de lima ácida 'Tahiti' submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em *packinghouse*, após 07 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).

Etapas de Beneficiamento pós-colheita	Distúrbios fisiológicos (%)			
	Podridão Apical	Oleocelose	Peteca	Total
Recepção	4,7 a	2,7 a	0,0 a	7,4
Lavagem	6,0 b	9,3 b	0,0 a	15,3
Seleção	3,3 c	10 c	0,0 a	13,3
Sanitização	3,4 d	6,7 d	2,7 b	12,8
Sanitização + Fungicida + GA	1,3 e	6,0 e	4,0 c	11,3
Descanso (24h)	5,3 f	2,7 a	3,3 d	11,3
Cera/Embalagem	0,7 g	6,7 d	5,3 e	12,7
Média	3,52	6,3	2,18	12,01

Médias com letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Valores apresentados correspondem à média dos resultados obtidos durante o período de armazenamento de 07 dias

Tabela 6. Incidência (%) de distúrbios fisiológicos em frutos de lima ácida 'Tahiti' submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em *packinghouse*, após 30 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).

Etapas de Beneficiamento pós-colheita	Distúrbios fisiológicos (%)			
	Podridão Apical	Oleocelose	Peteca	Total
Recepção	3,3 a	2,7 a	7,3 a	13,3
Lavagem	3,3 a	6,7 b	14,0 b	24,0
Seleção	1,3 b	6,7 b	14,0 b	22,0
Sanitização	4,0 c	10,7 c	8,0 c	22,7
Sanitização + Fungicida + GA	2,0 d	12,7 d	11,3 d	26,0
Descanso (24h)	6,7 e	10,0 e	8,0 c	24,7
Cera/Embalagem	2,7 f	7,3 f	12,0 e	22,0
Média	3,32	8,11	10,65	22,1

Médias com letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Valores apresentados correspondem à média dos resultados obtidos durante o período de armazenamento de 07 dias

Entre as doenças observadas em lima ácida 'Tahiti', o fungo *Phomopsis citri* Fawcetti (Diaporthaceae) apresentou maior média de incidência, onde 16,35% do total de frutos

avaliados após 30 dias de armazenamento foram acometidos por esse fungo, totalizando aproximadamente 172 frutos (Tabelas 7 e 8). O fungo *P. citri* se desenvolve a partir do pedúnculo do fruto e avança em direção à região central, em infecção avançada apresenta coloração da lesão marrom clara, causando perdas quando os frutos demoram a ser comercializados (FEICHTENBERGER et al., 2005). No interior do fruto, o fungo afeta o albedo e o eixo central (AMAT, 1991). A partir do sétimo dia de avaliação foi possível observar a incidência desse fungo e ao final do trigésimo dia de armazenamento a maior incidência ocorreu na etapa 03 do beneficiamento. A queda na incidência nas etapas 06 e 07 após a sanitização pode indicar que a sanitização associada ao fungicida e ao ácido giberélico foi eficiente para controle parcialmente esse patógeno. Fischer et al. (2007) observou um aumento na incidência da doença a partir da segunda semana de armazenamento em laranja lima ‘Natal’. Na Austrália e Japão foi verificada a importância de *P. citri* em citros (SINGH et al., 1977).

A podridão por *Penicillium* spp. apresentou a segunda maior incidência (1,9%) em pós-colheita de lima ácida ‘Taiti’, sendo observada em seis das sete etapas de beneficiamento após armazenamento de 30 dias, não tendo sido observada somente na etapa de sanitização e aplicação de fungicida (Tabelas 7 e 8). Nas etapas 06 e 07, posteriores à etapa 05, foi observada incidência de 0,7% e 2% de frutos acometidos por *Penicillium* spp., respectivamente. A maior incidência de *Penicillium* spp. se deu após o sétimo dia de armazenamento, nas etapas 02 e 03, com 2,7% de incidência em cada. A recontaminação dos frutos após aplicação de fungicida pode ser atribuída à elevada produção de esporos na superfície dos frutos, facilmente dispersos pelo ar, sendo muito abundantes nos *packinghouses* (LARANJEIRA et al., 2005). A infecção pelo patógeno ocorre através de injúrias, onde os nutrientes do fruto ficam disponíveis, estimulando a germinação dos esporos depositados na superfície do fruto, sendo possível observar a incidência do fungo após os sete dias de armazenamento.

Outros danos como podridão peduncular por *Lasioidiploia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (0,7%) e podridão por *Colletotrichum* spp. (4,21%) foram observados (Tabelas 7 e 8) e encontram-se apresentados como “outros”. Segundo Brown e Eckert (1993), a podridão por *L. theobromae* tem maior importância em regiões de clima quente e úmido, como na Florida e Caribe. A podridão causada por *Colletotrichum* spp. ocorre, em geral, em frutos previamente injuriados por pragas, queimaduras de sol e pulverizações inadequadas de defensivos agrícolas. Porém, em algumas variedades de tangerina, os sintomas da doença podem aparecer em frutos não injuriados (FEICHTENBERGER et al., 2005).

Tabela 7. Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em *packinghouse*, após 07 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).

Etapas de Beneficiamento pós-colheita	Doenças (%)			
	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Phomopsis</i> <i>citri</i>	Outros	Total
Recepção	0,0 a	6,7 a	0,0 a	6,7
Lavagem	0,0 a	3,3 b	0,0 a	3,3
Seleção	0,0 a	0,7 c	0,0 a	0,7
Sanitização	0,0 a	0,0 d	0,0 a	0,0
Sanitização + Fungicida + GA	0,0 a	0,7 c	0,0 a	0,7
Descanso (24h)	0,0 a	2,7 e	0,0 a	2,7
Cera/Embalagem	0,0 a	0,0 d	2,0 b	2,0
Média	0	2,01	0,3	2,3

Médias com letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Valores apresentados correspondem à média dos resultados obtidos durante o período de armazenamento de 07 dias

Tabela 8. Incidência (%) de doenças fúngicas pós-colheita em frutos de lima ácida ‘Tahiti’ submetidas a distintas etapas de beneficiamento pós-colheita em *packinghouse*, após 30 dias de armazenamento (8-10±2°C e 85±5% UR).

Etapas de Beneficiamento pós-colheita	Doenças (%)			
	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Phomopsis</i> <i>citri</i>	Outros	Total
Recepção	1,3 a	16,7 a	0,0 a	18,0
Lavagem	2,7 b	14,7 b	2,7 b	20,1
Seleção	2,7 b	22,7 c	2,0 c	27,4
Sanitização	4,0 c	8,0 d	3,4 d	15,4
Sanitização + Fungicida + GA	0,0 d	5,3 e	4,0 e	9,3
Descanso (24h)	0,7 e	2,7 f	4,7 f	8,1
Cera/Embalagem	2,0 f	6,0 g	12,7 g	20,7
Média	1,91	10,87	4,21	17

Médias com letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Valores apresentados correspondem à média dos resultados obtidos durante o período de armazenamento de 30 dias

Ao final do período de armazenamento foi constatado que a maior porcentagem de frutos em condições de comercialização (turgido e sem ocorrência de distúrbios fisiológicos e doenças pós-colheita), exceto pela perda de coloração, foi dos frutos não submetidos a todas as etapas do beneficiamento. Esse resultado é semelhante ao observado por Bassan et al. (2016) e Fischer et al. (2007).

Injurias causadas ao longo da linha de beneficiamento afetaram negativamente a eficiência dos tratamentos pós colheita utilizados no processo de beneficiamento de lima ácida 'Tahiti'. Independente da intensidade, os frutos são desqualificados para comercialização pela simples presença dos sintomas. Portanto, os índices de perdas de frutos em pós-colheita são, geralmente, reflexo dos percentuais de incidência nessa fase (GULLINO, 1994).

6. CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo realizado em pomares de lima ácida Tahiti na região de Mogi mirim (SP), conclui-se que:

- A incidência de aleirodídeos foi dominante à de cochonilhas;
- A maior diversidade de aleirodídeos e cochonilhas deu-se no pomar sob transição para orgânico;
- A maior taxa de parasitismo obtida foi no pomar em transição, significando que após um período de dois anos os parasitoides estão em equilíbrio;
- A maior taxa de infestação de pragas ocorreu no pomar orgânico;
- Existem espécies não descritas de parasitoides de *Aleurocanthus woglumi*;
- As etapas de beneficiamento pós-colheita são prejudiciais ao fruto;
- Os benefícios do tratamento pós-colheita são menores do que as injurias por eles causadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR-VOLDOSO, C.I.; MULLER, G.W.; TARGON, M.L.P.N.; SHINODER, E.H. Proteção integrada de doenças. In: MATTOS JUNIOR, D. de; DE NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O. de. **Lima ácida ‘Tahiti’**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2003. p.147-162.
- ALVES, S.B.; MEDEIROS, M.B.; TAMAI, M.A.; LOPES, R.B. Trofobiose e microrganismos na proteção de plantas. **Biociência**, n.21, p.16-21, jul./ago.2001.
- AMAT, S.R. **Defectos y alteraciones de los frutos cítricos em su comercialización**, Espanha, 1991. 153p
- ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; RIVERA-CABRERA, F.; KADER, A.A. Quality retention and potential shelf-life of fresh cut lemons as affected by cut type and temperature. **Postharvest Biology and Technology**. v. 43, p.245-254, 2006
- BABCOCK, C.S.; HERATY, J.M. Molecular markers distinguishing *Encarsia formosa* and *Encarsia luteola* (Hymenoptera: Aphelinidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.93, n.4, p. 738-744, 2000.
- BABCOCK, C.S.; HERATY, J.M.; DeBARRO, M.; DRIVER, P.J.; SCHMIDT, S. Preliminary phylogeny of *Encarsia* Forster (Hymenoptera: Aphelinidae) based on morphology and 28S rDNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, n.18, p. 306-323, 2001.
- BARRAT, B.I.P.; HOWARTH, F.G.; WITHERS, T.M.; KEAN, J.M.; RIDLEY, G.S. Progress in risk assessment for classical biological control. *Biological Control*, v.52, p.245-254, 210.
- BASSAN, M.M. et al. The harvesting system affects the quality and conservation of the ‘Tahiti’ acid lime. **Scientia Horticulturae**, v.155, p.72-77, 2013.
- BASSAN, M.M.; FILHO, F.A.A.M.; ALVES, R.F.; BEZERRA, D.F.; COUTO, H.T.Z.; JACOMINO, A.P. Beneficiamento pós-colheita de lima ácida ‘Tahiti’ afeta sua qualidade e conservação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.46, n.1, p.184-190, 2016.
- BASSETTO, E. **Quantificação de danos ao longo da cadeia produtiva de pêssegos e avaliação de métodos alternativos de controle de doenças pós-colheita**. 2006. 125P. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- BENAVENTE-GARCÍA, O., CASTILHO, J., MARTÍN, F.R., ORTUNO, A., del RIO, J.A. Use and properties of citrus flavonoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.45, p.4505–4515, 1997.
- BIASI, L.A.; ZANETTE, F. GA isolado ou associado com cera na conservação pós-colheita de lima ácida ‘Tahiti’. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 1, n.1/2, p.39-44, 2000.

BLEINROTH, E.W. Ponto de colheita. In: GAYET, J.P.; BLEINROTH, E.W. Lima ácida ‘Tahiti’ para exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita. Brasília: **EMBRAPA, SPI**, p. 11-18, 1995. (Série Publicações Técnicas – FRUPEX, 12).

BRASIL, Secretaria de Comércio Exterior – SECEX. Aliceweb. Disponível em: <<http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br>>

BROWN, G.E.; ECKERT, J.W. Green mold. In: 1st ed. Whiteside, J. O., Garnsey, S. M. & Timmer, L.W. (Eds.) **Compendium of Citrus Diseases**. 1st ed. Saint Paul MN. APS Press. 1993. pp. 35-36.

BROWNING, H.W.; MCGOVERN, R.J.; JACKSON, L.K.; CALVERT, D.V.; WARDOWSKI. Florida Citrus Diagnostic Guide. Florida Science Source, 1995.

CAMPBELL, C. W. Tahiti Production in Florida. Gainesville: University of Florida. Bulletin, 187, p. 45, s.d.

CAMPOS-FARINHA, A.E.C. Insetos sugadores pragas das plantas ornamentais. In: **Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico**, 14, 2006, Pariquera-Açu. *Anais...* São Paulo: Instituto Biológico, 2006. p. 34-38.

CARON, V. C. **Conservação refrigerada de lima ácida “Tahiti” em combinação com atmosfera modificada, ácido giberélico e permanganato de potássio**. Piracicaba, 2009. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2009. 98p.

CARVALHO, C.R.L.; CARVALHO, P.R.N.; MANTOVANI, D.M.B.; MORAES, R.M. **Análise química de alimentos**. Campinas: ITAL, 1990. 121p.

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.01, p.75-83, 1999.

CASSINO, P.C.R., RODRIGUES, W.C. Distribuição de Insetos Fitófagos (Hemiptera: Sternorrhyncha) em Plantas Cítricas no Estado do Rio de Janeiro. **Neotropical Entomology**, v.34, n.6, p.1017-1021, 2005.

CASSINO, P.C.R.; LIMA, A.F.; RACCA FILHO, F. *Orthezia praelonga* Douglas, 1891 em plantas cítricas no Brasil (Homoptera, Ortheziidae) **Arquivos Universidade Federal Rural Rio de Janeiro**, v.14, p. 35-57, 1991.

CENCI, S. A. Boas Práticas de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças na Agricultura Familiar. In: Fenelon do Nascimento Neto. (Org.). **Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar**. 1a ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006, v., p. 67-80.

CHESTERS, D.; WANG, Y., YU, F. et al. The integrative taxonomic approach reveals host specific species in an encyrtid parasitoid species complex. **PLoS ONE**, v.7, 2012.

CHITARRA, M. I.F.; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL/FAEPE, 1990. 320 p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. 2ed. Lavras:UFLA, 2005. 785P.

COELHO, Y.S. Lima ácida 'Tahiti' para exportação: aspectos técnicos da produção / Ygor da Silva Coelho; Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. - Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993. 3Sp. - (Série Publicações Técnicas FRUPEX; 1)

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Disponível em < <http://www.conab.gov.br> >. Acesso em janeiro de 2014.

COSTA LIMA, A. M. da. Superfamília Coccoidea. In: COSTA LIMA, A. M. da. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, t. 3, p. 191-307, 1942.

CULIK, M.P.; MARTINS, D.S.; VENTURA, J.A.; PERONTI, A.L.B.G.; GULLAN, P.J.; KONDO, T. Coccidae, Pseudococcidae, Ortheziidae, and Monophlebidae (Hemiptera: Coccoidea) of Espírito Santo, Brazil. **Biota Neotropica**, v.7, n.3, 2007.

CULIK, M.P.; WOLFF, V.R.S.; PERONTI, A.L.B.G.; BEM-DOV, Y.; VENTURA, J.A. Hemiptera, Coccoidea: Distribution extension and new records for the states of Espírito Santo, Ceará, and Pernambuco, Brazil. **Check List Journal of Species Lists and Distribution**, v. 7, n.4, 2011.

DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, v.85, p.407-406, 2005.

DE BARRO, P.J.; COOMBS, M.T. Realese Evaluation of *Eretmocerus hayati* Zolnerowich and Rose in Austrália. **Bulletin of Entomological Research**, v.99, p.193-206, 2009.

De BACH, P. Principles of introduction and establishment as illustrated by successful biological control of woolly whitefly. In: International Congress of Entomology. **Anais...** 16, p.353, 1980.

DENGEL, H.J. Investigations on the incidence of *Bemisia tabaci* (Genn.) adults on different cassava varieties. **Plant Research and Development**, Tubingen v. 1, n. 14, p. 37-49, 1981.

DOWELL R.V. et al. Biology plant insect relations and control of the citrus blackfly. Agricultural Experiment Station. University of Flórida. Gainesville. **Bulletin 818 (Technical)**. 1981. 49 p.

DUARTE, A. M. M.; GUARDIOLA, J. L. Factors affecting rind pitting in the mandarin hybrids 'Fortune' and 'Nova'. The influence of exogenous growth regulators. **Acta Horticulturae**. V. 379, p. 59-67, 1995.

DUARTE, R.T.; GALI, J.C.; PAZINI, W.C.; CALORE, R.A. Dinâmica populacional de *Trizoida limbata*, *Costalimaita ferruginera* e inimigos naturais em pomar orgânico e convencional de goiaba. **Revista brasileira de fruticultura**. V.34, p. 727-733, 2012.

DURIGAN, M.F.B.; MATTIUZ, B.; DURIGAN, J.F. Injúrias mecânicas na qualidade pós-colheita de lima ácida 'Tahiti' armazenada sob ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.3, p.396-372,2005.

EVANS, G. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the world and their host plants and natural enemies. Versão 2008-09-23. Beltsville: USDA, 703p. Disponível em: <<http://www.sel.barc.usda.gov:8080/1WF/World-Whitefly-Catalog.pdf>>. Acesso em 23/10/2014.

FEICHTENBERGER, E., BASSANEZI, R.B., SPÓSITO, M.B.; BELASQUE JUNIOR, J. Doenças dos citros dos citros (*Citrus* spp.). In: Kimati, H., Amorim, L., Rezende, J.A.M, Bergamin Filho, A.;Camargo, L.E.A. (Eds.) **Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo. Agronômica Ceres, v.2, 4.ed. 2005. pp. 239-269.

FERREIRA, D. F. Sisvar - sistema de análise de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA, 1998. 19 p.

FISCHER, I.H., TOFFANO, L., LOURENÇO, S.A. & AMORIM, L. Caracterização dos anos pós-colheita em citros procedentes de "packinghouse". **Fitopatologia Brasileira** v. 32, p.304-310. 2007.

FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. Citrus. **Agrianual 2009**: anuário da agricultura brasileira, São Paulo: Editora FNP, 2009. p.286-291.

FNP CONSULTORIA E COMÉRCIO. Citrus. **Agrianual 2011**: anuário da agricultura brasileira, São Paulo: Editora FNP, 2011. p.262-267.

GARCIA-MARÍ, F. As cochonilhas dos citros na Espanha condição atual e controle. In: III Seminário Internacional de citros, Bebedouro- São Paulo. **Anais...** Campinas, Fundação Cargil, v.3, 310p., 1994.

GARCIA, M.M; DENNO, B.D.; MILLER, D.R.; MILLER, G.L.; BEM-DOV, Y.; HARDY, N.B. ScaleNet: A literature-based model os scale insect biology and systematics. Disponível em: <http://scalenet.info>. 2015

GAYET, J.P.; SALVO FILHO, A. de. Colheita e beneficiamento. In: MATTOS JUNIOR, D. de; DE NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O. de. Lima ácida 'Tahiti'. Campinas: **Instituto Agronomico**, 2003. P.147-162.

GAYET. J.P. **Cultura, colheita. beneficiamento, transporte e comercialização de lima ácida 'Tahiti' (*Citrus latifolia* Tan.)** Conchal. SP: FRUTAL AGRO-EXPORTADORA SA 1991. 42p.

GEBIOLA, M.; GOMEZ-ZURITA, J.; MONTI, M.M.; NAVONE, P.; BERNARDO, U. Integration of molecular, ecological, morphological and endosymbiont data for species delimitation within the *Pnigalio soemius* complex (Hymenoptera: Eulophidae). **Molecular Ecology**, v.21, p.1190-1208, 2012.

GIORGINI, M.; BALDANZA, F. Species status of two populations of *Encarsia Sophia* (Girault & Dodd) (Hymenoptera: Aphelinidae) native to different geographic areas. **Biological Control**, v.30, p.23-35, 2004.

GOLOMB, A., BEN-YEROSHUA, S.; SARIG, Y. High-density polyethylene wrap improves wound healing and lengthens shelflife of mechanically harvested grapefruit. **Journal American Society Horticultural Society** 2:155-159. 1984.

GÓMEZ UGARTE, P. T. **Características de los limones y factores de huerto que incidirían en el desarrollo de peteca**. Tesis Ing. Agr. Santiago de Chile, Chile. Universidad de Chile. 76 p, 1984.

GORINSTEIN, S.; MARTÍN-BELLOSO, O.; PARK, Y.S.; HARUENKIT, R.; LOJEK, A.; CÍZ, M.; CASPI, A.; LIBMAN, I.; TRAKHTENBERG, S. Comparison os some biochemical characteristics of diferente citrus fruits. **Food Chemistry**. V.74, p. 309-3015, 2001.

GRAVENA, S. **Manual práctico de manejo ecológico de pragas dos citros**. Jaboticabal: S. Gravena, 2005. 372p.

GRAVENA, S. Cochonilha branca: descontrolada em 2001. **Laranja**, Cordeirópolis, v.24, n.1, p.71-82, 2003.

GREATHEAD, D.J. Parasitoids in classical biological control. In: WAAGE, J.K.; GREATHEAD, D.J. **Insect Parasitoids**. Academic Press, London, p. 287-318, 1986.

GULLINO, M.L. Lotta biologica a funghi agenti de arciumi della frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatolico**, v.4, p.5-13. 1994.

GUTIERREZ, A.S.D.; ALMEIDA, G.V.B. Beneficiamento e comercialização de frutos in natura. In: MATTOS Jr., D.; De NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: IAC; FUNDAG, 2005. p.823-837.

HEBERT, P.D.N.; CYWINSKA, A.; BALL, S.L.; WAARD, J.R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London**. The Royal Society, v.270, p. 313-321, 2003.

HEMPEL, A. As coccidas do Brasil. **Catálogo da Fauna Brasileira**. Ed. Mus. Paul., São Paulo, 1912.

HERATY, J.M.; POLASZEK, A. Morphometric analysis and descriptions of selected species in the *Encarsia strenua* group (Hymenoptera: Aphelinidae). **Journal of Hymenoptera Research**, v.9, p.142-169, 2000.

HERATY, J.M.; HAWKS, D.; KOSTECKI, J.S., CARMICHAEL, A. Phylogeny and behavior of the Gollumiellinae, a new subfamily of the ant parasitic Eucharitidae (Hymenoptera: Chalcidoidea). **Systematic Entomology**, Oxford, v.29, n.1, p. 544-559, 2004.

HILJE, L.; MORALES, F.J. Whitefly bioecology and management in Latin America, p. 4250-4260. In: Campinera J. **Encyclopedia of Entomology**. Springer, 2508p, 2008.

HILLIS, D.M.; DIXON, M.T.; Ribossomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. **The Quartely Review of Biology**, New York, v.66, p. 411-453, 1991.

HILLIS, D.M.; MORITZ, C.; MABLE, B.K. **Molecular systematics**. Sunderland: Sinauer, 1996. 655p.

HODGES, G. S.; EVANS, G. A. An identification guide to the whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the southeastern United States. **Florida Entomologist**, Lutz, n. 84, p. 518-534, 2005.

HUNTER, M. S. The influence of parthenogenesis-inducing *Wolbachia* on the oviposition behaviour and sex-specific developmental requirements of autoparasitoid wasps. **Journal of Evolutionary Biology**, v.12, p. 735–741, 2009.

HUNTER, M.S.; WOOLEY, J.B. Evolution and behavioural ecology of heteronomous aphelinid parasitoids. **Annual Review of Entomology**, v.46, p.251-290, 2001.

IBGE, 2011. Indicadores IBGE: Produção Agrícola. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores>>.

IBGE, 2016. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/>>. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

IBRAF, 2016. **Desempenho do Comércio Exterior: Frutas, castanhas e nozes brasileiras**. São Paulo, 29p, 2016.

IMPERATO, R. **Incidência de mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi*, Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em duas espécies cítricas na região centro-leste do estado de São Paulo: dinâmica populacional, aleirodídeos associados, diversidade de parasitoides (Hymenoptera), influência de fatores abióticos e aspectos nutricionais**. 2014. 96p. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal, Vegetal e Segurança Alimentar no Agronegócio), Instituto Biológico, São Paulo, 2014.

IOBC/WPRS, International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants. Guidelines for Integrated Production of Citrus. In: **Bulletin IOBC/WPRS**, IOBC Technical Guideline III, v.28, 2004. 10p.

IBRAF - INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS. Guia de técnicas de plantio e oportunidades comerciais para frutas: limão Tahiti. São Paulo, 1995. 82p.

JIMENEZ-CUESTA, M.; CUQUERELLA CAYUELA, J.; MARTINEZ-JÁ VEJA, J.M. **Teoría y practica de la desverdización de los cítricos**. Madrid: INIA, 1983. 22p. (INIA. Hoja técnica, 46).

JOMORI, M.L.L.; KLUGE, R.A.; JACOMINO, A.P.; TAVARES, S. Conservação refrigerada de lima ácida 'Tahiti': 1-metilciclopropeno, ácido giberélico e cera. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 406-409, 2003.

KADER, A. A. Postharvest biology and technology: na overview. In: Kader, A. A., **Postharvest Technology of Horticultural Crops**. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Oakland, CA, USA. v. 3311, p. 39-48, 2002.

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. University of California, 2002, 535p.

KLUGE, R.A.; SCARPARE FILHO, J.A.; JACOMINO, A.P.; PEIXOTO, C.P. **Distúrbios fisiológicos em frutos**. Piracicaba: FEALQ, 2001. 58p.

KLUGE, R.A. **Distúrbios fisiológicos em frutos**. Piracicaba: FEALQ, 2001. 58p. **Métodos combinados de conservação de frutas cítricas**. 2006. 58p. Tese (Livre Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

KOPPEN, W. Climatologia: com um estúdio de los climas de la tierra. **México: Fundo de Cultura Econômica**, 478p. 1948.

LARANJEIRA, F.F., AMORIM, L., BERGAMIN FILHO, A., AGUILAR-VILDOSO, C.I. & DELLA COLLETA FILHO, H. **Fungos, procariotos e doenças abióticas**. In: Mattos Junior, D., De Negri, J.D., Pio, R.M. & Pompeu Junior, J. (Eds.) Citros. Campinas, SP. Instituto Agrônomo de Campinas e Fundag. 2005.

LOPES, J.M.S. et al. Importância Econômica dos Citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**. Ano 10, n. 20, 2011.

LOXDALE, H.D.; LUSHAI, G. Molecular markers in entomology. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v.88, p. 577-600, 1998.

LUCHETTI, M.A.; MATTOS JUNIOR, D. de; DE NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O. Aspectos gerais e distribuição de cultivo. In: MATTOS JUNIOR, D. de; DE NEGRI, J.D.; FIGUEIREDO, J.O. de. **Lima ácida Tahiti**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2003. p. 1-12.

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. 77f. 2008. **Dissertação (Mestrado)**; Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

MAIA, W.J.M.S.; MAIA, T.J.A.F.; MENDONÇA, D.C.; LEÃO, T.A.C.; PINHEIRO, S.J.L.; OLIVEIRA, A.S.S.; BERNARDES, B.B. Diversidade da entomofauna de inimigos naturais de *Aleurocanthus woglumi* ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), nos municípios paraenses de Belém, Capitão Poço e Irituia. In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, XX, Gramado, RS, 2004. Porto Alegre: UFRS, 2004. p.251.

MANZARI, S., QUICKE, D.L.J. A Cladistic Analysis of Whiteflies, Subfamily Aleyrodinae (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodinae). **Journal of Natural History**, v. 40, n.44-46, p.2423-2554, 2006.

MANZARI, S.; POLASZEK, A.; BELSHAW, R.; QUICKE, D. L. J. Morphometric and molecular analysis of the *Encarsia inaron* speciesgroup (Hymenoptera: Aphelinidae), parasitoids of whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.92, p. 165–175, 2002.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2013. Disponível em < <http://www.agricultura.gov.br/> >. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

MARINHO, C.F. **Análises morfométricas e moleculares de espécies de *Doryctobracon* Enderleis e *Opius* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae), parasitoides de moscas-das-**

frutas (Diptera:Tephritidae). 2009. 140p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2009.

MARLETT, J.A., VOLLENDORF, N.W. Dietary fiber content and composition of different forms of fruits. **Food Chemistry**. v. 51, p.39–44, 1994.

MARQUES, L.C. **Ocorrência de Predadores de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) e sua Predação por *Delphastus pusillus* (LeConte) (Coleoptera: Coccinellidae) no Município de Capitão Poço, Estado do Pará**. Dissertação (Mestrado-Universidade Rural da Amazônia). 2007.

MARTIN, J.H.; MOUND, L.A. An annotated check list of the world’s whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). **Zootaxa**, v.1492, p.1-84, 2007.

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-SP, v.31, n.4, p.1016-1021,2009.

MEYER, C.P.; PAULAY, G. DNA Barcoding: Error Rates Based on Comprehensive Sampling. **PLoS Biol**, v.3, 2005.

MILER, D.R.; MILLER, G.L.; HODGES, G.S.; DAVIDSON, J.A. Introduced scale insects (Hemiptera: Coccoidea) of the United States and their impact on U.S. agriculture. **Proceedings of Entomological Society of Washington**, n.107, p. 123-158, 2005.

MONTERO, C.R.S.; SHWARZ, L.L.; SANTOS, L.C.; ANDREAZZ, C.S.; KECHINSKI, C.P.; BENDER, R.J. Postharvest mechanical damage affects fruit quality of ‘Montenegrina’ and ‘Rainha’ tangerines. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1636-1640, 2009.

MONTERO, C.R.S. et al. Oleocellosis incidence in citrus fruit in response to mechanical injuries. **Scientia Horticulturae**, v. 134, p.227-231, 2012.,

MONTI, M.M; NAPPO, A.G.; GIORGINI, M. Molecular characterization of closely related species in the parasitic genus *Encarsia* (Hymenoptera: Aphelinidae) based on the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene. **Bulletin of Entomological Research**, v. 95, p.401-408, 2005.

MORANDI FILHO, W.J.; GRUTZMACHER, A.D.; BOTTON, M.; BERTIN, A. Controle químico da cochonilha-farinhenta *Planococcus citri* (RISSO, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em diferentes idades da videira. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.3, p. 427-435, 2009.

NASCIMENTO, L.M.; SANTOS, E.J.; LEONEZI, A.L.; Eficiência da aplicação de diferentes doses de fungicidas em lima ácida ‘Tahiti’, laranja ‘Pêra’ e tangor ‘Murcott’ para o controle de *Penicillium digitatum*. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, Hermosillo, v.7, p.41-47, 2005.

NOYES, J.S. Universal Chalcidoidea Database. The Natural History Museum, London, UK, 2013. Disponível em : < www.nhm.ac.uk/entomology/chalcidooids/>

OLIVEIRA, M. R. V.; SILVA, C. C. A.; NÁVIA, D. **Comunicado Técnico**, Brasília: Embrapa, 2001. 17p.

OLIVEIRA, M.R.V.; SILVA, C.C.A. da; NAVIA, D.; Praga Quarentenária A1: A mosca negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae). **EMBRAPA-Comunicado Técnico**. V. 40, 1999, 7p.

PALACIOS, J. **Citricultura**. Buenos Aires, Alfa Beta. 518 p., 2005.

PALOU, L. Control of Citrus Postharvest Diseases by Physical Means. **Tree and Forestry Science and Biotechnology**. v.2, p.127-142. 2009.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 850p.

PARRA, J.R.P.; OLIVEIRA, H.N.; PINTO, A.S. Guia Ilustrado de Pragas e Insetos Benéficos dos Citros. Piracicaba: A.S. Pinto, 2003. 140p.

PEDIGO, I.P.; BUNTIN, G.D. Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture. Boca Raton: CRC Press, 1994. 714p.

PELEG, K. **Produce Handling, Packing and Distribution**. Westport: AVI Publishing, 1985. 625p.

PRATES, H.S. Piolho branco, a praga dos citros. **Agroquímica Ciba-Geigy**, n.12, p.11-13, 1980.

POLASZEK, A., MANZARI, S., QUICKE, D.L.J. Morphological and molecular taxonomic analysis of the *Encarsia meritoria* species-complex (Hymenoptera, Aphelinidae), parasitoids of whiteflies (Hemiptera, Aleyrodidae) of economic importance. **Zoologica Scripta**, v.33, p.411-412, 2004.

POZZAN, M.A. Comportamentos e tratamentos de frutos cítricos em pós-colheita. **Revista Laranja**, Cordeirópolis, v.18, n.1, p.189-204. 1997.

POZZAN, M.; TRIBONI, H.R. Colheita e qualidade do fruto. In: MATTOS JÚNIOR, D.; NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU Jr., J. **Citros**. Campinas: Instituto Agrônomo e Fundag, 2005. p. 801-822.

RAGA, A.; IMPERATO, R.; MAIA, W.J.M.S. Mosca Negra dos Citros. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v.34, n.2, p.57-63, 2013.

RAGA, A.; BASILLI, J.F.M., SOARES, D.Z. Comportamento de oviposição da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) em plantas cítricas. **Idesia**, v.30, p.111-114, 2012.

RAGA, A.; MARSARO JUNIOR, A.L.; RACCA FILHO, F.; COSTA, V.A. Novos registros de Aleyrodidae (Hemiptera) no Estado de Roraima, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**. V.78, n.3, p.439-441, 2011.

RAGA, A; COSTA, V.A. Mosca-negra-dos-citros. São Paulo: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios. **Documento Técnico**. p. 1-9, 2008.

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. **Sciencedomain**, v.11, p.1-7, 2016.

RODRIGUES, W.C.; CASSINO, P.C.R.; SPOLIDORO, M.V.; SILVA-FILHO, R. Insetos Sugadores (Sternorrhyncha) em Cultivo Orgânico de Tangerina cv. Poncã (*Citrus reticulata* Blanco): diversidade, constância, frequência e flutuação populacional. **EntomoBrasilis**, v.2, p.42-48, 2009.

SARGENT, S.A.; BRECHT, J.K.; ZOELLNER, J.J. Assessment of mechanical damage in tomato packing lines. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v30, n.1, p.630-634, 1989a.

SARGENT, S.A.; BRECHT, J.K.; ZOELLNER, J.J.; CHAU, K.V.; RISSE, L.A. Reducing mechanical damage tomatoes during handling and shipment. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.30, n.2, p.714-719, 1989b.

SCHMIDT, S.; BARRO, P.; JAMIESON, L. Parasitoids of the Australian Citrus Whitefly, *Orchamoplatus citri* (Takahashi) (Hemiptera, Aleyrodidae), with Description of a New *Eretmocerus* species (Hymenoptera, Aphelinidae). **Zootaxa**. V.2873, p.27-34, 2011.

SECEX, 2016. Secretaria de Comercio Exterior. Disponível em <<http://www.mdic.gov.br/>>. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

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

SILVA, A.G. et al. Influência dos fatores abióticos na Infestação de Mosca-Negra-dos-Citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) em Plantio de Citros em Sistema Agroflorestal no Estado do Pará. **EntomoBrasilis**. 4: 01-06, 2011.

SILVA, I.M.M.S.; HONDA, J.; VAN KAN, F.; HU, J.; NETO, L.; PINTUREAU, B.; STOUTHAMER, R. Molecular differentiation of five *Trichogramma* species occurring in Portugal. **Biological Control**, Orlando, v.16, p. 177-184, 1999.

SILVA, R.A.; CHAGAS-FILHO, N.R.; BUSOLI, A.C. Biologia de *Coccidophilus citricola* Brèthes, 1905 (Coleoptera: Coccinellidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.7, suplemento 3, 2007.

SINGH, G.; RIPPON, L.E.; GILBERT, W.S. 2,4-D residues in stored lemons from post-harvest treatments. **Australian Journal of Experimental Agriculture Husbandry**, v.17, p.167-170, 1977.

SMITH, D.; PENA, J.E. Tropical Citrus Pests. In: PENA, J.E., SHARP, J.L.; WYSOKI, M. Tropical Fruit Pests and Pollinators: Biology, Economic Importance, Natural Enemies and Control. Wallingford: CABI, p. 57-101, 2002.

TAKAHASHI, K.M. Aspectos bioecológicos e potencial de parasitismo de *Encarsia formosa* (Gahan) (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre *Bemisia tabaci* biótipo B (*Gennadius*) (Hemiptera: Aleyrodidae) em couve tomate e soja. Tese (Doutorado em Ciências/Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

TAMURA, M.S. et al. Avaliação pós-colheita dos parâmetros físico-químicos das limas ácidas ‘Tahiti’ que sofreram danos mecânicos. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v.1, p.79-82, 2010.

THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D.G. The CLUSTAL X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, 1997, v.25, n.24, p. 4876-4882, 1997.

TRIPLEHORN, C.A.; JOHNSON, N.F. Borror and Delong’s Introduction to the study of Insects. **Thomson Brooks/Cole**, 7^a ed., 2005.

UNDURRAGA, M. P.; OLAETA, C.; RETAMALES, A. J.; BRITO, P. A. Effect of dipping in calcium solutions on peteca (rind pitting) in lemons and limes, harvested after a rainfall and cold stored. **Agricultura Técnica** (Chile). 66: 3-12, 2006.

VIEGAS, E.C.; SAMPAIO, H.N.; CARVALHO, P.O.L.; PERRUSO, J.C.; CASSINO, P.C.R. Controle alternativo de *Orthezia praelonga* Douglas, 1891 (Homoptera, Ortheziidae) em laboratório. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 15, Caxambú, 1995. **Anais**. Caxambu: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995, p.333.

VIGNEAULT, C.; BORDINT, M. R.; ABRAHÃO, R. F. Embalagem para frutas e hortaliças. In: CORTEZ, L. A. B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. **Resfriamento de frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. p. 95–121.

VILAS BOAS, E.V.B. **Perdas pós-colheita**. Lavras: UFLA; FAEPE, 2000. 64p.

VILELA, P. Limão Tahiti. Disponível em: <http://www.sebrae.com.br/setor/fruticultura/osetor/frutas/limao>. Acesso em: 20 de novembro de 2017.

VITTI, A. **Análise de competitividade das exportações brasileiras de frutas selecionadas no mercado internacional**. 2009. 107p. Dissertação (Mestrado em Economia Aplicada) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

WAKS, J.; SCHIFFMANN-NADEL, M.; LOMANIEC, E.; CHALUTZ, E. Relation between fruit waxing and development of rots in citrus fruit during storage. **Plant Disease Reporter**, St Paul, v. 69, n. 10, p. 869-870, 1985.

YAMAMOTO, P.T.; PAIVA, P.E.B.; GRAVENA, S. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de citros na região norte do Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 165-170, 2001.



SECRETARIA DE
AGRICULTURA E ABASTECIMENTO



GOVERNO DO ESTADO DE
SÃO PAULO
TRABALHANDO POR VOCÊ