

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE LARANJEIRAS COM
HUANGLONGBING**

Vanessa Aparecida Villanova Saccini

Engenheira Agrônoma

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE LARANJEIRAS COM
HUANGLONGBING**

Vanessa Aparecida Villanova Saccini

Orientador: Prof^a. Dr^a. Durvalina Maria Mathias dos Santos

Co-orientador: Dr. Camilo Lázaro Medina

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

S119p Saccini, Vanessa Aparecida Villanova
Parâmetros fisiológicos de Laranjeiras com Huanglongbing /
Vanessa Aparecida Villanova Saccini. — — Jaboticabal, 2013
ix, 60 p.; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientadora: Durvalina Maria Mathias dos Santos
Coorientador: Camilo Lázaro Medina
Banca examinadora: Antonio Baldo Geraldo Martins, Dirceu de
Mattos Júnior
Bibliografia

1. *Citrus sinensis*. 2. '*Candidatus Liberibacter*' spp.. 3. Citros-
doença. 4. Laranjeiras Valência-fisiologia vegetal. I. Título. II.
Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 581.1:634.31

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VANESSA APARECIDA VILLANOVA SACCINI – Nasceu em 16 de abril de 1985, no município de Mogi Mirim, São Paulo, completou o segundo grau em 2002 no colégio COC e ingressou, em 2005, no curso de graduação de Engenharia Agrônômica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP/Jaboticabal. Durante a faculdade estagiou em 2008 por um ano, na área de Fitopatologia, quando desenvolveu o trabalho intitulado “Comportamento de isolados de *Guignardia citricarpa* a fungicidas dos grupos das estrobilurinas e benzimidazóis”, e este foi o trabalho de conclusão de curso no ano de 2009, sob orientação do Prof. Dr. Antonio de Góes. Participou do XXI Congresso Brasileiro de Fruticultura no ano de 2010. Em março de 2011 iniciou o curso de mestrado junto ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Produção Vegetal) na mesma Universidade da graduação. No ano de 2012 publicou dois artigos intitulados “Espermidina exógena atenua os efeitos do cloreto de sódio na germinação e crescimento inicial de leguminosas forrageiras” e “Crescimento radicular e pigmentos clorofilianos em duas forrageiras submetidas a níveis crescentes de NaCl”. No mesmo ano foi enviado para o congresso “Internacional Citrus Congress” o resumo expandido intitulado “Gas exchanged and water relations of Valencia oranges trees infected with huanglongbing (HLB, ex greening)”. Em 2013, o resumo expandido intitulado “Nutricional analysis of Valencia orange flowers infected with huanglongbing” foi enviado ao 3rd Internacional Research Conference on Huanglongbing.

Aos meus pais por todo apoio, amor, carinho e dedicação a minha formação, afinal sem vocês eu não seria como eu sou, não teria tanta coragem e persistência em finalizar meus projetos. Amo vocês!

À minha irmã querida, Valéria, por todas as horas de conversas ao telefone, por muitos conselhos, apoio. Obrigada pelo ombro amigo, te amo!

Dedico e Ofereço

Ao meu noivo André por estar mais uma vez ao meu lado, me apoiando, incentivando. Obrigada por me dizer o que eu precisava ouvir, e sempre segurar minha mão quando eu precisei. Obrigada por existir e estar comigo!

Homenageio

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por ter proporcionado todas as coisas boas na minha vida, todas as oportunidades, e por ter concebido a vida. Também, pela força e sabedoria, para que eu nunca desistisse dos meus objetivos.

À minha amiga querida Jéssica da Silva, pelo apoio, conselhos, 'puxadas de orelhas', enfim por estar presente sempre em minha vida!

À minha querida professora e orientadora Dr^a. Durvalina Maria Mathias dos Santos, por ter aceitado me orientar mesmo não sendo um trabalho da sua linha de pesquisa. Por ter me ajudado sempre nas horas que eu precisei, por tantos conselhos, conversas. Enfim, por ser essa pessoa que encoraja e apoia sempre! Não foi a toa que eu escolhi a senhora.

À meu Coorientador Dr. Camilo Lázaro Medina pela amizade, incentivo nas pesquisas, dedicação. Obrigada por todos os conselhos e ajudas nas horas difíceis. Por ter me aceitado como aluna, e me mostrado como é importante a pesquisa.

Aos professores Dr. Renato de Mello Prado, Dr. Jackson Antonio Marcondes de Souza, Dr. Pedro Luiz da Costa A. Alves e Dr. Rogério Falleiros Carvalho pelas orientações para o desenvolvimento do meu trabalho, pela amizade, e desenvolvimento de todas as análises necessárias.

À Sônia Maria R. Carregari, por ter me recebido tão bem no laboratório, pela atenção, pela disposição em ajudar, pelos ensinamentos e bons momentos no laboratório.

À todos os colegas de laboratório, Juliana, Flávio e Mariana, pela convivência.

À empresa Cerca Viva Conchal Insumos Agrícolas Ltda por ter permitido todas as minhas ausências no trabalho para conclusão desse estudo.

Aos meus colegas de trabalho que souberam me apoiar para o término do mestrado.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	iii
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Origem, classificação e importância econômica dos citros	3
2.2. A Doença: Huanglongbing (greening)	4
2.3. Diagnose foliar	7
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
3.1. Localização e caracterização da área experimental	9
3.2. Medidas de trocas gasosas.....	10
3.3. Medidas do potencial hídrico da folha.....	10
3.4. Medidas de macro e micronutrientes em flores, folhas e ramos.....	11
IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
V. CONCLUSÕES.....	52
VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DE LARANJEIRAS COM HUANGLONGBING

RESUMO – O huanglongbing (HLB) é considerada a mais severa doença em citros, foi constatada no Brasil em 2004 e desde então tem causado sérios danos à citricultura do país, podendo colocar em risco esse importante setor do agronegócio brasileiro. A doença é causada por bactérias limitadas ao floema. Os sintomas típicos das plantas são mosqueamento, ramos amarelos, frutos deformados e pequenos. Obstruções no floema, comuns no processo infeccioso também podem afetar a fotossíntese e as relações hídricas. Os sintomas do HLB podem ser mascarados por outros sintomas gerados a partir de algumas doenças, além do mais, tais sintomas podem ser confundidos com algumas deficiências minerais. O trabalho teve como objetivo verificar os efeitos do HLB no processo fotossintético, condutância estomática, transpiração, potencial hídrico e no conteúdo mineral das flores, folhas e ramos, em plantas de laranja ‘Valência’, visando conhecer as respostas fisiológicas nas plantas infectadas pela doença. Os tratamentos consistiram em plantas saudáveis; plantas doentes assintomáticas e plantas doentes sintomáticas. As trocas gasosas e relações hídricas foram medidas em dez/2011 e mar/2012. Para a estimativa da taxa de assimilação de carbono (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E) foram selecionadas folhas de 8 a 9 meses de idade, porém evitou-se folhas com sintomas severos nas plantas sintomáticas, essas medidas foram realizadas às 8:00, 12:00 e 15:00 h. O potencial da água das folhas (Ψ_f) foi medido às 6:00 e 14:00 h, foram selecionados ramos com três folhas cada. Foram realizadas seis avaliações nutricionais para folhas e ramos, com intervalos de 30 dias cada, e as flores foram avaliadas apenas em Nov/2011. Os resultados evidenciaram que, A não foi alterada pela doença, mas a g_s e a E apresentaram redução em plantas doentes, sintomáticas e assintomáticas, na segunda avaliação. Houve redução no Ψ_f às 14 horas. O efeito negativo da doença no potencial hídrico e na condutância estomática foi ameno a ponto de não interferir na fotossíntese. A doença afetou o transporte, absorção e redistribuição de elementos minerais.

Palavra-chave: *Citrus sinensis*, doença, ‘*Candidatus Liberibacter*’ spp., transpiração, fotossíntese, nutrientes minerais

PHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF ORANGES TREE WITH HUANGLONGBING

ABSTRACT - The huanglongbing (HLB) is considered one of the most severe diseases of citrus. Since its discovery in Brazil in 2004, it has caused serious damage to the citrus production and industry in the country, making vulnerable this important sector of the Brazilian agribusiness. This disease is caused by phloem-restricted bacteria. Typical symptoms of plants are mottled, yellow branches, and small deformed fruits. Infected trees show phloem obstructions, which can also affect photosynthesis and water relations. The symptoms of HLB may be masked by other symptoms generated from some diseases, moreover, such symptoms can be confused with some mineral deficiencies. The objective of this study was to investigate the effects of HLB in the photosynthetic process, stomatal conductance, transpiration, water potential and mineral content of the flowers, leaves and branches on orange trees [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck, 'Valencia'], to determine the physiological responses in plants infected by the disease. The treatments consisted of healthy plants, plants asymptomatic patients and symptomatic diseased plants. Gas exchange and water relations were measured in December/2011 and March/2012. To estimate the rate of carbon assimilation (A), stomatal conductance (g_s) and transpiration (E) were selected leaves 8-9 months old, but was avoided leaves with severe symptoms in symptomatic plants, these measurements were performed 8:00 a.m., 12:00 a.m. and 3:00 p.m. The leaf water potential (Ψ_f) was observed during two day periods, at 6:00 a.m. and 2:00 p.m. Nutritional assessments were carried out for six leaves and branches, with intervals of 30 days each, and the flowers were evaluated only in November/2011. The results showed that A was not affected by the disease, but g_s and E decreased in symptomatic and asymptomatic diseased plants, in the second evaluation. There was a reduction in Ψ_f at 2:00 p.m. Once photosynthesis was not affected in this study, it might be inferred that the negative disease effects determined on citrus leaf water potential and stomatal conductance were not severe enough yet to interfere with the water condition of photosynthesis. The disease affecting the transport, absorption and redistribution of mineral elements.

Keyword: *Citrus sinensis*, disease, '*Candidatus Liberibacter*' spp., transpiration, photosynthesis, nutrient

LISTA DE TABELAS

p.

Tabela 1. Atributos químicos do solo retirado das profundidades, 0-20 e 0-40 cm .	10
Tabela 2. Faixas para interpretação dos resultados de macronutrientes (g.kg^{-1}) e micronutrientes (mg.kg^{-1}), nas folhas de citros.....	12
Tabela 3. Análise de variância de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), em três períodos diários (08, 12 e 15 h), em duas avaliações (12/12/2011 e 12/03/2012), de laranjeiras ‘Valência’ com folhas saudas, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB ..	14
Tabela 4. Análise de variância do potencial hídrico (Ψ_f) em dois períodos diários (06 e 14 h) na 1ª e 2ª avaliação (12/12/2011 e 12/03/2012), de laranjeiras ‘Valência’ com folhas saudas, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB..	16
Tabela 5. Temperatura do ar (T_a), temperatura das folhas de laranjeiras ‘Valência’ (T_f °C), umidade relativa do ar (UR) e déficit de pressão de vapor (KPa) em três períodos diários (08, 12 e 15 h) para a 1ª e 2ª avaliação (12/12/2011 e 12/03/2012) ..	18
Tabela 6. Análise de variância dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) determinados em seis períodos de avaliações (PA) das partes vegetativas (PV) de laranjeiras ‘Valência’ (P) saudas, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB, Piracicaba, SP ..	22
Tabela 7. Análise de variância dos micronutrientes (B, Mn, Fe, Cu, Zn) determinados em seis períodos de avaliações (PA) das partes vegetativas (PV) de laranjeiras ‘Valência’ (P) saudas, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB. Piracicaba, SP ..	23

LISTA DE FIGURAS

	p.
Figura 1. Disposição do experimento no sítio Paredão Vermelho, Piracicaba	9
Figura 2. Ramo selecionado, logo acima dos doentes, na planta sintomática para determinação das taxas de assimilação de carbono, potencial hídrico e teores de macronutrientes (g.kg^{-1}) e micronutrientes (mg.kg^{-1}).	11
Figura 3. Relações hídricas das folhas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB, as 8:00, 12:00 e 15:00 horas, na 2ª avaliação (12/03/2012). (A) Condutância estomática (B) Transpiração. *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre as horas) e minúscula (dentro das horas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).	15
Figura 4. Potencial hídrico foliar de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB, em três horários (06 e 14 horas) na segunda avaliação (12/03/2012). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre as horas) e minúscula (dentro das horas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).	17
Figura 5. Teores de N de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).	25
Figura 6. Teores de N de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).	27
Figura 7. Teores de P de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).	28

- Figura 8.** Teores de N de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....30
- Figura 9.** Teores de K de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....31
- Figura 10.** Teores de K de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....32
- Figura 11.** Teores de Ca de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....34
- Figura 12.** Teores de Ca de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....35
- Figura 13.** Teores de Mg (A) e S (B) de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....36

- Figura 14.** Teores de Mg (A) e S (B) de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).38
- Figura 15.** Teores de B de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....39
- Figura 16.** Teores de Mn de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....40
- Figura 17.** Teores de B (A) e Mn (B) de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....42
- Figura 18.** Teores de Fe de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....44
- Figura 19.** Teores de Cu de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).....45

- Figura 20.** Teores de Fe de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).46
- Figura 21.** Teores de Zn de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).47
- Figura 22.** Teores de Zn de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).49
- Figura 23.** Teores de macro (A) e micronutrientes (B) de flores de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), no dia 24/11/2012. *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).50

I. INTRODUÇÃO

O huanglongbing¹ (HLB) é a doença mais destrutiva na cultura dos citros, é causada por bactérias gram-negativas limitadas ao floema, do gênero '*Candidatus Liberibacter*' spp. Três espécies estão associadas ao HLB dos citros, '*Ca. Liberibacter africanus*', '*Ca. Liberibacter asiaticus*' e '*Ca. Liberibacter americanus*', sendo que as duas últimas ocorrem no Brasil (COLLETA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2010). A transmissão pode ocorrer a partir de material de propagação contaminado, e naturalmente por psíldeos, *Diaphorina citri* Kuwayama e *Trioza erytreae* (BOVÉ, 2006; LIAO & BURNS, 2012).

Presente há varias décadas nos continentes asiático e africano, a doença foi detectada nos dois maiores produtores mundiais de suco de laranja, São Paulo (Brasil) e Flórida (EUA), nos anos de 2004 e 2005, respectivamente (BELASQUE JUNIOR et al., 2009). O Brasil detém 50% da produção mundial de laranja e 85% da produção de suco da fruta (NEVES et al., 2011). O sistema agroindustrial citrícola brasileiro movimenta anualmente cerca de R\$ 9 bilhões e gera mais de 400 mil empregos diretos e indiretos. Pelos danos que causa e pela dificuldade no manejo, a doença coloca em risco este importante setor do agronegócio brasileiro.

O HLB é motivo de muita preocupação nos países em que ocorre, uma vez que causa efeitos prejudiciais ao desenvolvimento das plantas, principalmente na produção de frutos (CASTRO et al., 2010). Os sintomas típicos em plantas doentes evidenciam mosqueamento em folhas, ramos amarelos e frutos deformados (GRAÇA, 1991). A deformidade dos frutos mostra a necessidade de estudos das relações hídricas e da própria funcionalidade do sistema vascular infectado pela bactéria. As relações hídricas de plantas doentes podem ser afetadas devido aos distúrbios no funcionamento de estômatos, ao aumento da resistência ao fluxo e/ou à absorção de água pelas raízes (MACHADO et al., 1994; MACHADO et al., 2002).

Sabendo que o funcionamento estomático pode influenciar na produtividade do vegetal, já que, taxas menores de CO₂ atmosférico estarão disponíveis no interior das células das plantas e que, em batata, a bactéria '*Candidatus Liberibacter*

¹ Huanglongbing: Doença do dragão amarelo, onde: huang = amarelo; long = dragão; bing = doença

psyllaorous' transmitida também por um psíldeo, provocou dentre outros sintomas a obstrução do vaso floemático, acúmulo de amido nos cloroplastos e redução nas taxas de fotossíntese (GAO et al., 2009), ainda não foram medidas em plantas com HLB estas taxas.

O potencial hídrico foliar indica o estado energético da água livre no interior das células das plantas de modo que, suas variações podem afetar a assimilação de carbono na planta (VASCONCELOS et al., 2010). Isto porque, se a planta está com baixo potencial hídrico, os estômatos serão fechados devido à baixa turgidez das células guarda, e assim haverá uma redução na fotossíntese. Presume-se que, nos horários mais quentes do dia a condutância estomática diminua a ponto de evitar que o potencial hídrico da folha diminua além dos níveis considerados críticos para a estabilidade do sistema de transporte de água (OREN et al., 1999).

As folhas podem apresentar, na maioria das vezes, alterações fisiológicas devido a distúrbios nutricionais (BATAGLIA et al., 1996). A redistribuição e absorção de minerais em plantas com HLB não foi muito relatada na literatura, sabe-se que a distribuição muitas vezes se relaciona com o fluxo hídrico do floema e xilema, porém em plantas com esta doença este estudo ainda não foi descrito.

A evidência de frutos com sintomas de HLB são pouco túrgidos ou murchos, o que associada a presença de sintomas de deficiências minerais em folhas novas, mostram a necessidade do estudo para o entendimento de como as relações hídricas e o transporte de elementos minerais estão sendo afetados em plantas de citros infectadas pelo '*Candidatus Liberibacter*' spp.

Arevalo et al. (2009) mostram que, o suprimento de plantas com nutrientes aplicados via foliar podem minimizar os efeitos do HLB, com aparente viçiosidade. Contudo, como o crescimento das plantas está relacionado com a sua eficiência fotossintética, faz-se necessário conhecer como a fotossíntese é afetada pelo HLB, como é a redistribuição dos nutrientes na planta.

No presente trabalho, o objetivo foi verificar os efeitos da doença HLB no processo fotossintético, condutância estomática, transpiração, potencial hídrico e no conteúdo mineral das flores, folhas e ramos, em plantas de laranja 'Valência', visando conhecer as respostas fisiológicas nas plantas infectadas com a doença.

II. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem, classificação e importância econômica dos citros

As plantas cítricas são originárias das regiões tropicais e subtropicais da Ásia e do arquipélago Malaio, estendendo-se desde a Índia, o norte da China, a Nova Guiné e até Austrália. Sua origem ocorreu por volta de 20 a 30 milhões de anos atrás (ARAUJO & ROQUE, 2005).

O sistema de classificação dos *Citrus* mais utilizado foi proposto por Swingle (1943) cujas plantas pertencem a família Rutaceae, sub-família Aurantioideae, tribo Citreae, subtribo Citrinae, tendo como principais gêneros: *Fortunella*, *Poncirus* e *Microcitrus*. O gênero *Citrus* engloba quase a totalidade das espécies comerciais cultivadas como a laranja doce [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], tangerinas (*C. reticulata* Blanco), mexericas (*C. deliciosa* Ten.), limas ácidas (*C. aurantifolia* (Christm.) Swingle), lima ácida Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka), limões verdadeiros (*C. limon* Burm.f.) e pomelos (*C. paradisi* Macfad) (ARAUJO & ROQUE, 2005).

O mundo possui uma área de 7,63 milhões de hectares de citros, sendo que 800 mil hectares encontram-se no Brasil. No cenário das commodities agrícolas o Brasil tem ocupado lugar de destaque, desponta como o maior produtor de frutas cítricas do mundo e o maior exportador de suco de laranja concentrado e congelado, com participação de 85% no mercado mundial, acarretando US\$ 1,5 bilhão a US\$ 2,5 bilhões por ano. Sabe-se que 98% do que produz é exportado, e que a cada cinco copos de laranjas consumidos mundialmente, três são produzidos pelo Brasil (NEVES et al., 2011).

Essa riqueza está distribuída em centenas de empresas diretamente ligadas ao setor, em milhares de propriedades rurais, gerando mais de 400 mil empregos diretos e indiretos (NEVES et al., 2011). Apesar da imensa área agrícola que o Brasil possui, 70% da produção de laranja está concentrada no Estado de São Paulo (FRANCISCO et al., 2011). Para a safra agrícola paulista de 2010, a estimativa final da produção foi de 322,2 milhões de caixas de 40,8 Kg, em 2011 foi de 352,9 milhões de caixas (40,8 Kg), apresentando um aumento de 9,5%.

A Europa, principal destino do suco de laranja brasileiro, consumiu 29% do volume mundial de bebidas do sabor laranja em 2009, sendo 56% na forma de

sucos, 18% em néctares. Os EUA ainda são os maiores consumidores de suco de laranja do mundo, com 791 mil toneladas em 2011 (NEVES et al., 2011).

2.2. A Doença: Huanglongbing

O HLB é uma doença provavelmente originária do sul da Ásia e foi descrita na China em 1925 (LIN, 1956) citado por Achor et al. (2010) e tem como agente causal a bactéria '*Candidatus Liberibacter*' spp., classificadas como α -Proteobacteria, da ordem Rhizobiales e família *Rhizobiaceae*. Por sua vez, são capazes de habitar o interior dos vasos do floema, e provocar expressivos distúrbios no metabolismo de seus hospedeiros (Machado et al. 2010).

A doença pode ser provocada por três tipos de bactérias: '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', '*Ca. Liberibacter africanus*' e '*Ca. Liberibacter americanus*' (BOVÉ, 2006). O HLB tem como vetor os insetos, psílídeos, *Diaphorina citri* e *Trioza erytreae* (BELASQUE JUNIOR et al., 2009). A bactéria do tipo *americanus* somente foi detectada no Brasil, enquanto que a *asiaticus* está presente, além da Ásia, no Brasil, na Flórida e em Cuba (MARTINEZ et al., 2009).

O período entre a infecção e o aparecimento dos sintomas da doença na planta, depende de vários fatores como o ambiente (temperatura), idade e espécie da planta hospedeira, da concentração bacteriana na transmissão, da espécie de '*Ca. Liberibacter*', da época do ano, entre outros. Por estas razões, o período de incubação para o HLB varia, geralmente, de seis a 12 meses (BOVÉ, 2006).

Os sintomas da doença são caracterizados pela presença de ramos com folhas amarelas e parcialmente verdes, formando assim um mosqueado. As folhas dos ramos sintomáticos apresentam-se, às vezes, menores, curvadas, com nervuras grossas e escuras (BOVÉ, 2006). Em estádios mais avançados, a planta pode sofrer desfolha e os ramos amarelos podem aparecer por toda a copa não sendo mais setorizado (COLLETA-FILHO, 2011). Pode-se observar a presença de sementes abortadas quando um corte perpendicular ao eixo é feito nos frutos (BELASQUE JUNIOR et al., 2009).

Embora nas plantas cítricas a presença da bactéria resulte em sintomas bem evidentes, dados da literatura têm mostrado uma distribuição irregular do patógeno e também concentrações baixas do mesmo no floema (HUNG et al., 1999).

A maior incidência de plantas com sintomas visuais é observada entre o final do verão e o início do outono, com máxima detecção ocorrendo entre o outono e o inverno. Devido à maior taxa de translocação de fotossimilados nas plantas em pleno crescimento (planta jovem), uma crescente visita dos vetores é prevista, o que acarreta alta incidência de HLB em pomares jovens que nos pomares adultos (BASSANEZI et al., 2010). Também os sintomas do HLB podem ser mascarados por outros sintomas gerados a partir de algumas doenças, ou em alguns casos, provocados por condições não relacionadas com HLB (BOVÉ, 2006).

Em plantas infectadas com HLB, o acúmulo de amido encontra-se em todas as células fotossintéticas, em células do parênquima do tecido da medula e vasculares e até mesmo nos elementos do floema (ETXEBERRIA et al., 2009). Esse acúmulo é resultado do bloqueio de transporte de açúcares no vaso condutor devido ao processo infeccioso, e contudo provoca um acúmulo de calose e proteínas que impedem o fluxo normal de seiva por todo sistema vascular dos pecíolos das folhas. Takushi et al. (2007) mediram em folhas de plantas infectadas uma concentração de amido 20 vezes maior que folhas de plantas saudáveis.

O excesso de amido nos cloroplastos, de plantas com HLB, pode causar o rompimento da estrutura e alterar a função dos tilacóides, estruturas fundamentais para o processo fotoquímico na fotossíntese (BONDADA & SYVERTSEN, 2005). Este processo pode explicar o desenvolvimento do sintoma de mosqueamento nas folhas maduras que é relacionado ao amarelecimento irregular de alguns locais, seguidos de regiões mais verdes. Até os dias atuais, não se encontram, na literatura, estudos mostrando se esse acúmulo de amido em plantas com HLB pode estar relacionado também com taxas fotossintéticas alteradas, a ponto de promoverem um distúrbio de carboidratos no interior das células.

As brotações de ramos com sintomas de HLB são comparativamente menores as de plantas saudáveis, as folhas são amareladas e os sintomas se confundem com deficiências minerais diversas como aquelas produzidas por zinco, ferro, manganês, boro (GÓMEZ, 2011). Estas deficiências podem estar relacionadas

a vários fatores, destacando-se: I) a falta de assimilação do sistema radicular, uma vez que este não recebe açúcares da parte aérea da planta contaminada com a bactéria; II) a falta de redistribuição de minerais pelo floema, uma vez que este está obstruído. Entretanto, não há informações na literatura que permite evidenciar como é a redistribuição e absorção de minerais em plantas com HLB.

Sabe-se que, o carregamento ativo de açúcares é fundamental para que os elementos crivados próximos a fonte desenvolva um potencial de pressão positivo maior que os elementos crivados próximos ao dreno, promovendo um fluxo no sentido da fonte para o dreno (TAIZ & ZEIGER, 2013). A evidência de frutos com sintomas de HLB serem pouco túrgidos ou murchos, o que associada a presença de sintomas de deficiências minerais em folhas novas, mostram a necessidade do estudo para o entendimento de como as relações hídricas e o transporte de elementos minerais estão sendo afetados em plantas de citros infectadas pelo '*Candidatus Liberibacter*' spp. (MEDINA^{2*}, 2012).

As pragas e doenças podem influenciar a composição mineral das folhas, da mesma forma que uma deficiência mineral predispõe as plantas ao patógeno, como pode ser o caso do amarelinho (CVC) e HLB (MALAVOLTA et al., 1994). O desbalanço nutricional, tempo de infecção e alterações fisiológicas na planta podem causar a sua morte, assim é importante verificar a eficiência fotossintética de plantas sadias e doentes e observar a relação com a deficiência mineral e o estado de hidratação das mesmas (MEDINA, 2002). Plantas com HLB apresentam redução dos teores minerais foliares de N, K, Zn, Cu e Mn (MALAVOLTA et al., 2005). Estas deficiências podem afetar diretamente o processo de fotossíntese, a formação de tecidos especializados como floema e xilema, pois tais nutrientes são componentes essenciais de enzimas, pigmentos, e até mesmo de ativadores ou catalisadores desses processos (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O potencial hídrico foliar indica se o estado de hidratação é adequado nas folhas, e as variações desse potencial, de modo geral, influenciam o processo fotossintético da planta. Isto porque, se a planta de citros estiver com baixo potencial hídrico, os estômatos serão fechados, devido à baixa turgescência das células guarda. Consequentemente, haverá uma redução na assimilação de carbono

²Camilo Lázaro Medina, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), citação pessoal, 2012.

atmosférico. Presume-se que, nos horários mais quentes do dia a condutância estomática diminua a ponto de evitar que o potencial hídrico da folha diminua além dos níveis considerados críticos para a estabilidade do sistema de transporte de água (OREN et al., 1999; PIMENTEL, 2004; MACHADO et al., 2006; MEDINA, 2002).

As laranjeiras infectadas com *Xylella fastidiosa* apresentam redução no potencial hídrico foliar, fechamento estomático e consequentemente redução da fotossíntese (MACHADO et al., 1994; MEDINA, 1999). No entanto, há dúvidas se a bactéria '*Candidatus Liberibacter*' spp. poderia promover alterações no estado de hidratação foliar e causar danos semelhantes.

O processo de desenvolvimento dos sistemas vasculares nas plantas é dinâmico e ocorre ao longo do tempo nas árvores. Novos tecidos vasculares são formados a partir do tecido cambial, e esse processo é demorado e contínuo. Este tecido necessita de energia e minerais para a multiplicação das células que serão diferenciadas em novos vasos de floema e/ou xilema (TAIZ & ZEIGER, 2013). É interessante o conhecimento da composição mineral da região cambial jovem para assim, poder entender como o HLB se comporta.

2.3. Diagnose foliar

O desenvolvimento do vegetal é muito afetado pela sua nutrição, sendo possível prevenir os insucessos na produção, devido a deficiências ou excessos de nutrientes, usando-se a análise química como critério para recomendação de corretivos e fertilizantes (BATAGLIA et al., 1996). Existem diversos métodos para avaliar o estado nutricional das plantas, sendo os principais a diagnose visual e a diagnose foliar.

A análise mineral de tecidos é utilizada, basicamente, para avaliar o estado nutricional das culturas. Quando empregada em complemento à análise do solo, constitui-se em uma importante ferramenta para o manejo do estado nutricional das plantas. Normalmente, a folha é a parte da planta utilizada na análise. Isto se deve pelo fato deste tecido vegetal apresentar uma alta atividade metabólica, refletindo, em sua composição, as mudanças nutricionais (EPSTEIN & BLOOM, 2007).

O uso correto da diagnose foliar como método de avaliação do estado nutricional de planta depende do conhecimento das limitações da técnica. É necessário conhecimentos dos fatores que possam afetar a concentração dos nutrientes nas folhas. Deve-se ressaltar que o sintoma visual, de deficiência ou toxidez, é o último passo de uma série de problemas metabólicos, irreversíveis, e que quando aparecem, de maneira geral, a produção já foi comprometida. Pode haver situações em que o crescimento e a produção são limitados, sem que a os sintomas típicos se manifestem.

A composição química das folhas é o resultado da ação e da interação de diversos fatores que atuam até o momento em que as mesmas foram colhidas para a análise (MALAVOLTA & MALAVOLTA, 1989). As recomendações atuais para amostragens de folhas, para fins de diagnose foliar em citros no Estado de São Paulo, indicam retirar a 3ª ou 4ª folha, a partir do fruto, gerada na primavera. Os padrões nutricionais para este tipo de amostragem são base para o diagnóstico nutricional em citros no Estado de São Paulo (GRUPO PAULISTA, 1994).

III. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Localização e caracterização da área experimental

O estudo foi conduzido no sítio Paredão Vermelho localizado no município de Piracicaba, estado de São Paulo (Latitude 22°41'21,62" e Longitude 47°53' 35,49"), com altitude média de 554 m. Segundo classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cwa, temperado úmido com inverno seco e verão quente. A média pluviométrica para a região de Piracicaba no mês de dezembro de 2011 e março de 2012 foi de 176 mm e 63 mm, respectivamente.

Foram utilizadas plantas de laranjeiras 'Valência' [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], com aproximadamente oito anos de idade, ambas enxertadas em limão 'Cravo' (*Citrus limonia* Osbeck), as quais identificadas como plantas saudáveis, plantas infectadas com HLB e sem sintomas da doença (assintomáticas) e plantas infectadas com HLB e com sintomas da doença (sintomáticas).

De cada classificação foram selecionadas 15 plantas subdivididas em três repetições de cinco plantas. Estas plantas estavam próximas umas das outras, de forma que as condições de solo e ambiente foram semelhantes durante todo o experimento. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A figura 1 mostra a disposição do experimento, onde as plantas encontravam-se ao centro do talhão para evitar o efeito bordadura.

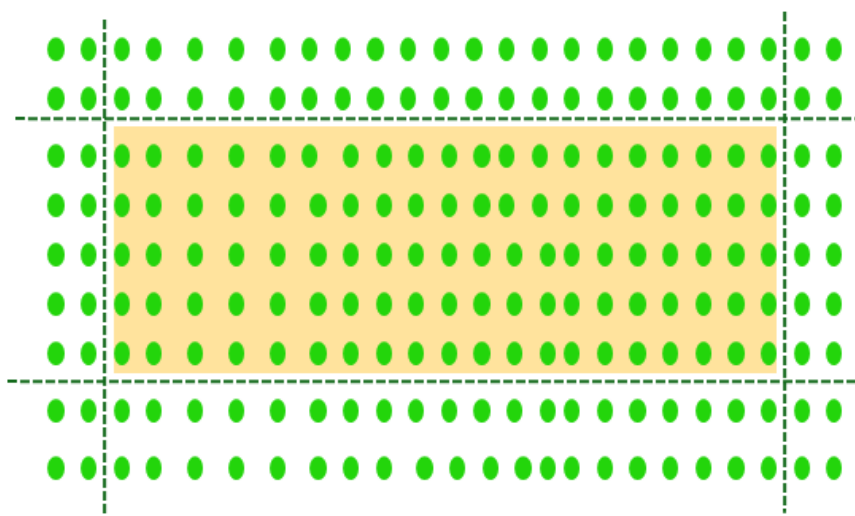


Figura 1. Disposição do experimento no sítio Paredão Vermelho, Piracicaba.

Para a comprovação da presença da bactéria '*Candidatus Liberibacter*' spp. foi usado a técnica de "polymerase chain reaction" (PCR) estabelecida por Hocquellet et al. (1999). A análise química do solo da área de estudo foi realizada de acordo com RAIJ et al. (2001), pelo Departamento de Solos e Adubos, FCAV, Unesp, Câmpus de Jaboticabal (Tabela 1).

Tabela 1. Atributos químicos do solo retirado das profundidades, 0-20 e 0-40 cm.

Prof. cm	pH	M.O. ¹ g.dm ⁻³	P-resina mg.dm ⁻³	K	Ca	Mg	H+Al	SB ²	CTC ³	V ⁴ %
0 - 20	5,5	11	24	0,6	10	12	16	30,6	46,6	66
0 - 40	5,9	10	17	0,7	25	28	13	46,7	59,7	78

¹M.O.: Matéria Orgânica; ²SB: Soma de Bases; ³T: Capacidade de Troca de Cátions; ⁴V: Saturação por Bases.

3.2. Medidas de trocas gasosas

Para avaliação de trocas gasosas foram medidas a taxa de assimilação de carbono (A), a transpiração (E) e a condutância estomática (g_s), utilizando-se medidor portátil de fotossíntese, IRGA, modelo Li-6400 Licor (Lincoln - EUA). As medidas foram realizadas das 8:00 às 9:00 horas, das 12:00 às 13:00 horas e das 15:00 às 16:00 horas, de acordo com Medina (1999).

Em todos os tratamentos, foram selecionadas folhas jovens de idade entre oito e nove meses, totalmente expandidas e expostas diretamente à radiação solar. Nas plantas sintomáticas, foram escolhidas folhas localizadas acima do ramo com sintomas de infecção da bactéria do HLB, conforme figura 2, evitando assim folhas sintomáticas. Para os demais tratamentos a escolha foi aleatória, pois todas as folhas apresentavam aparência saudável.

3.3. Medidas do potencial hídrico da folha

O potencial hídrico foliar (Ψ_f) foi avaliado às 6:00 e 14:00 h, a partir das medidas do potencial de pressão do xilema, realizado com uma câmara de pressão de Scholander (Modelo 3005-1412, Soilmoisture Equipment Corp, Goleta – USA), conforme método descrito por Kaufmann (1968).



Figura 2. Ramo selecionado, logo acima dos doentes, na planta sintomática para determinação das taxas de assimilação de carbono, potencial hídrico e teores de macronutrientes (g.kg^{-1}) e micronutrientes (mg.kg^{-1}).

Para as medidas do Ψ_f selecionaram-se ramos com três a quatro folhas com idade entre oito e nove meses. As folhas foram previamente cobertas por filme plástico umedecido, seguidas de corte por lâmina, em corte rápido e único no pecíolo junto ao ramo. A seguir, o ramo inteiro com as folhas foi colocado na câmara de pressão contendo papel úmido no seu interior, e a leitura somente foi realizada após visualização do exsudato da seiva. Para tal leitura utilizou-se lente de aumento de imagem de 10x.

3.4. Determinações de macro e micronutrientes em flores, folhas e ramos

A determinação dos nutrientes (macro e micronutrientes) de ramos e folhas iniciou-se em novembro de 2011, em intervalos de 30 dias, com a última avaliação realizada em julho de 2012, totalizando seis análises. Para flores foi realizada apenas uma avaliação, pois neste período houve uma única florada.

Foram coletadas folhas recém-maduras, geradas na primavera, tomando-se cuidado de amostrar a 3ª ou 4ª folha, perfazendo um total de 20 folhas por repetição. Evitou-se a coleta de folhas com sintomas severos do HLB em plantas sintomáticas, conforme figura 2.

Para a análise química dos ramos velhos, destacou-se as folhas, raspou-se a epiderme, e descartou-se a maior parte do lenho e trabalhou-se com a região próximo ao cambio, onde essa foi partida em pequenas partes para facilitar a moagem. Já para os ramos novos, foi utilizado o material todo por si só, uma vez pela fragilidade do tecido, não era possível a separação do tecido cambial dos demais, e esses também foram partidos.

Após a coleta, as amostras foram armazenadas em sacos de papel identificados e levadas ao laboratório. As folhas foram devidamente limpas com água deionizada e detergente neutro. As amostras foram submetidas à secagem em estufa com circulação fechada de ar na temperatura de 65 °C. Posteriormente as amostras foram moídas.

As análises foram realizadas no Laboratório de Solos do Departamento de Solos e Adubos, FCAV, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, de acordo com métodos descritos por Bataglia et al. (1983). Para a determinação de P, K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn foi utilizada a digestão nitroperclórica. Para a determinação do nitrogênio (N) foi usado o método de titulação e, para a determinação do boro, o método foi determinado pela formação de um complexo colorido a partir da reação do ácido bórico com o reagente azometina H. Para interpretação dos resultados, baseou-se no critério estabelecido pelo Grupo Paulista (2004), tabela 2.

Tabela 2. Faixas para interpretação dos resultados de macronutrientes (g.kg^{-1}) e micronutrientes (mg.kg^{-1}), nas folhas de citros.

Macronutrientes	Baixo	Adequado	Excessivo
N	< 23	23 - 27	> 30
P	< 1,2	1,2 - 1,6	> 2,0
K	< 10	10 - 15	> 20
Ca	< 35	35 - 45	> 45
Mg	< 2,5	2,5 - 4,0	> 5,0
S	< 2,0	2,0 - 3,0	> 5,0
Micronutrientes			
B	< 36	36 - 100	>150
Mn	< 35	35 - 50	>100
Fe	< 50	50 - 120	>200
Cu	< 4,1	4,1 - 10	>15,0
Zn	< 35	35 - 50	>100

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em ambas as avaliações (12/12/2011 e 12/03/2012) não houve efeito da doença no processo fotossintético (Tabela 3). Esta resposta é interessante, visto que a fotossíntese de algumas plantas doentes geralmente é restringida, como é o caso das plantas de batata infectadas com a bactéria '*Candidatus Liberibacter psyllaureus*' e de laranjeiras com CVC que mostraram acentuado decréscimo do processo fotossintético (MACHADO et al., 2006; GAO et al., 2009). Tecidos contendo a bactéria do HLB apresentam alta quantidade de calose, que por sua vez, podem aumentar os níveis de sacarose, e isso tudo devido aos distúrbios de transporte nos vasos do floema (KIM et al., 2009).

Como a fotossíntese não foi afetada provavelmente não houve um distúrbio metabólico no hospedeiro, e nenhum desequilíbrio no metabolismo de carboidratos. Essa resposta pode estar relacionada com a ausência de toxinas ou mecanismos patogênicos que afetam a fotossíntese na fase inicial dos sintomas foliares. Duan et al. (2009) relatam que, '*Ca. Liberibacter asiaticus*' está mais próximo de um parasita que se alimenta dos nutrientes da seiva sem apresentar mecanismos destruidores das células do hospedeiro, uma vez que toxinas não foram encontradas a partir de estudos do genoma.

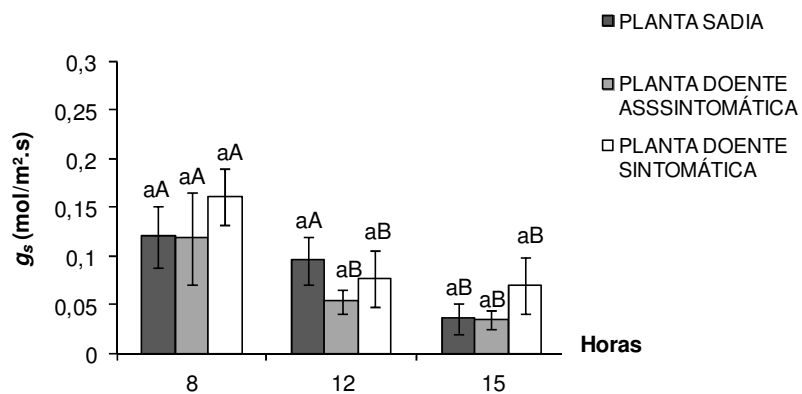
Por outro lado, as relações hídricas foliares com os resultados da condutância estomática, nos dois períodos de avaliação, revelaram que a abertura estomática foi consideravelmente reduzida, em plantas doentes, em 12/03/2012, onde apresentou uma variação de 0,16 para 0,07 mmol/m².s (Tabela 3, Figura 3A). O decréscimo da g_s , ao longo do dia, pode ser atribuído ao efeito da temperatura e à diminuição do potencial hídrico foliar (Tabelas 4 e 5, Figura 4). Ainda não é claro se a condutância estomática é mais responsiva ao Ψ_f ou, se a g_s responde mais rapidamente à variação na umidade do ar como um mecanismo para evitar a perda excessiva de água, já que a transpiração também irá diminuir (COSTA & MARRENCO, 2007). Nota-se que, ocorreu redução na condutância estomática e taxas de transpiração, bem como no potencial da água na folha (Figuras 3 e 4). As plantas sintomáticas apresentam a condutância estomática reduzida, devido à doença estar em estágio mais avançado, e esta altera o potencial hídrico das células-guarda.

Tabela 3. Análise de variância de fotossíntese (A), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), em três períodos diários (08, 12 e 15 h), em duas avaliações (12/12/2011 e 12/03/2012), de laranjeiras 'Valência' com folhas sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB.

Causas de variação	G.L.	AVALIAÇÕES		
		12-12-2011		
		A^1	g_s^2	E^3
Plantas sadias, assintomáticas e sintomáticas (P)	2	ns	ns	ns
Horas (H)	2	ns	*	ns
P x H	4	ns	ns	ns
C.V. (%)		45,89	55,53	33,46
12-03-2012				
Plantas sadias, assintomáticas e sintomáticas (P)	2	ns	ns	ns
Horas (H)	2	**	**	**
P x H	4	ns	*	**
C.V. (%)		21,52	17,36	15,99

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); *: significativo ($P < 0,05$); **: significativo ($P < 0,01$); C.V.: Coeficiente de Variação. ¹A: fotossíntese em $\mu\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$; ² g_s : condutância estomática em $\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$; ³E: transpiração em $\text{mmol}/\text{m}^2.\text{s}$.

A



B

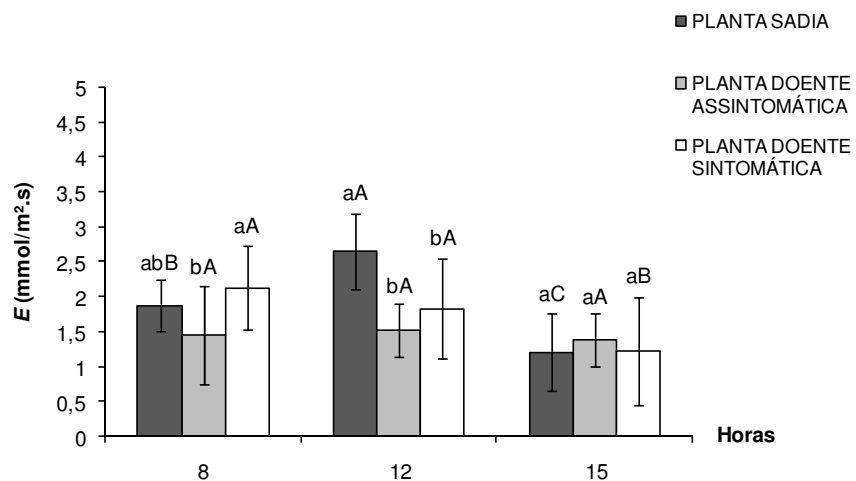


Figura 3. Relações hídricas das folhas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB, as 8:00, 12:00 e 15:00 horas, na 2ª avaliação (12/03/2012). (A) Condutância estomática (B) Transpiração. *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre as horas) e minúscula (dentro das horas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Tabela 4. Análise de variância do potencial hídrico (Ψ_f) em dois períodos diários (06 e 14 h) na 1ª e 2ª avaliação (12/12/2011 e 12/03/2012), de laranjeiras ‘Valência’ com folhas sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB.

Causas da variação	G.L.	Avaliações	
		12-12-2011	12-03-2012
		Ψ_f^1	Ψ_f
Plantas sadias, assintomáticas e sintomáticas (P)	2	ns	*
Horas (H)	1	**	**
P X H	2	ns	**
C. V. (%)		8,40	4,35

^{ns}: não significativo ($P > 0,05$); ** : significativo ($P < 0,01$); C.V.: Coeficiente de variação. ¹ Ψ_f em MPa.

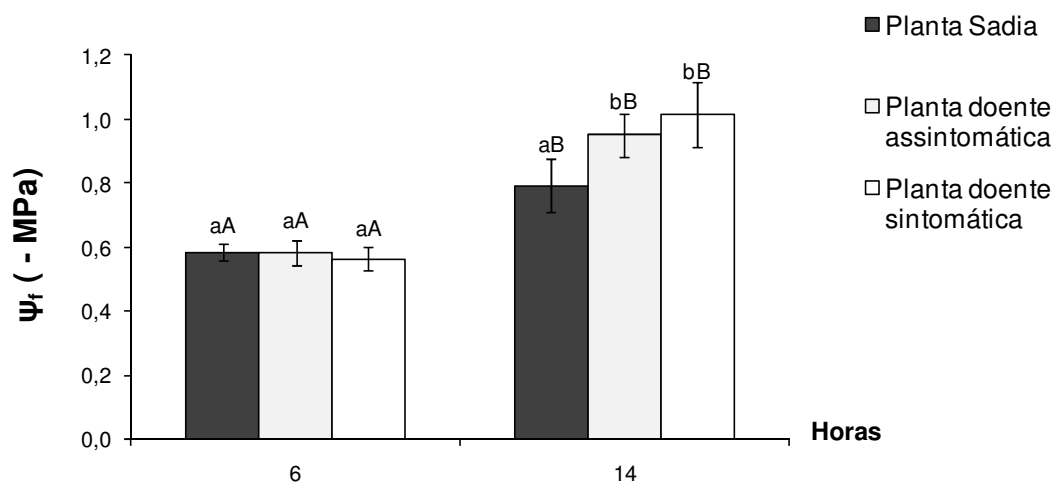


Figura 4. Potencial hídrico foliar de laranjeiras 'Valência' sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB, em três horários (06 e 14 horas) na segunda avaliação (12/03/2012). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre as horas) e minúscula (dentro das horas) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

Tabela 5. Temperatura do ar (Tar), temperatura das folhas de laranjeiras 'Valência' (Tf °C), umidade relativa do ar (UR) e déficit de pressão de vapor (KPa) em três períodos diários (08, 12 e 15 h) para a 1ª e 2ª avaliação (12/12/2011 e 12/03/2012).

Horas	12-12-2011				12-03-2012			
	Tar ¹	Tf ²	UR ³	DPV ⁴	Tar ¹	Tf ²	UR ³	DPV ⁴
08	30,58	30,57	47,33	2,22	29,57	29,78	65,27	1,46
12	35,52	36,46	34,13	4,04	35,57	35,73	56,55	2,58
15	37,26	37,66	24,66	4,85	37,05	37,34	47,59	3,35

¹Tar: temperatura do ar em °C; ²Tf: temperatura das folhas de laranjeira 'Valência' em °C;

³UR: umidade relativa do ar em %; ⁴DPV: déficit de pressão de vapor em KPa.

Podemos observar com a figura 3B, que houve um maior efeito do HLB sobre a transpiração do que quando observamos a g_s . Talvez a doença possa ter um efeito negativo sobre as plantas, mas não severo a ponto de diminuir a condutância estomática na mesma proporção que a transpiração.

Dado o aumento do déficit de pressão de vapor (Tabela 5), que ocorre ao longo do dia, tanto a condutância estomática quanto a transpiração foram reduzidas significativamente (Figura 3). A redução da g_s pode ocorrer por uma série de fatores, como o vento, radiação solar, nível de CO_2 no mesófilo, potencial hídrico, umidade do solo, entre outros. Logo de imediato, pode ocorrer uma diminuição na perda de vapor de água para prevenir a desidratação do tecido, mas isso irá afetar negativamente a absorção de CO_2 e, conseqüente, a taxa fotossintética. Contudo, os resultados encontrados, no presente trabalho, não evidenciaram decréscimo na fotossíntese (Tabela 3), portanto, pode-se inferir que a dinâmica da relação hídrica foliar não interferiu no acúmulo de fotossintatos em plantas doentes. Por outro lado, como a fotossíntese foi avaliada pelo método instrumental (IRGA), discretas reduções deste processo podem não ter sido detectadas. A menor abertura estomática em plantas doentes, de fato, comprometeu a taxa fotossintética, mas isso talvez somente poderia ser detectada com análises mais acuradas.

Os resultados da g_s e também do potencial hídrico foliar, da primeira avaliação, não evidenciaram qualquer efeito da doença, corroborando com os relatos de Machado et al. (2002), que constataram máxima condutância estomática em plantas saudáveis de laranjeira 'Valência' quando o teor de água da folha é alto, o que ocorre nas primeiras horas da manhã quando a folha não perdeu muito vapor de água por transpiração. Por outro lado, a diminuição da g_s às 12 horas, na segunda avaliação, evidenciou que a doença pode ter causado redução da abertura estomática ou mesmo acelerado o início do mecanismo de fechamento estomático (Figura 3A).

As temperaturas mais altas registradas neste horário, 35,5°C (T_a) e 35,7°C (T_f) e a umidade relativa do ar mais baixa 56,55% afetaram apenas as plantas doentes, assintomáticas e sintomáticas (Tabela 5), isso implica em aumento do déficit de pressão de vapor e aumento da demanda transpiratória. A umidade do ar em si, pode ser baixa e não causar maior transpiração, o que comanda a

transpiração é o déficit de pressão de vapor. Os efeitos da doença podem estar relacionados com a dinâmica de abertura e fechamento estomático, isto é um aspecto físico, alterando as relações hídricas da folha induzindo a planta a considerar um estado de estresse por deficiência hídrica foliar, embora isto não tenha refletido significativamente nos resultados da transpiração.

A relação direta entre a transpiração e a condutância estomática já era esperada, tendo em vista a diminuição do fluxo de vapor de água para a atmosfera à medida que se fecham os estômatos. A redução da transpiração pode ser resultante do fechamento induzido dos estômatos pela doença, e até mesmo devido à obstrução do floema pela presença do patógeno. Também, a doença pode ter disparado eventos que conduziram à síntese de ácido abscísico (ABA) que promoveu a diminuição da condutância estomática pelo fato de desativar a bomba de ATPase na membrana celular das células guardas e impedir o acúmulo de íons K para abertura estomatal (SCHROEDER et al., 2001; NILSON & ASSMANN, 2007). Ainda, eventos que conduziram ao catabolismo dos hormônios que regulam a abertura estomática, como citocininas e auxinas (TANAKA et al. 2006) ou a interação entre vários hormônios (ACHARYA & ASSMANN, 2009) induzindo à biossíntese de ABA, podem ter acontecido na presença do HLB.

No horário mais tardio, às 15:00 h, ocorreu acentuada redução da condutância em todas as plantas (Figura 3A), pelo fato de ter aumentado a temperatura em 4% e principalmente pela drástica redução da UR em 15,8% (Tabela 5). Porém, também, deve ter contribuído para este resultado o menor potencial hídrico ocorrido às 14:00 h nas plantas doentes (Figura 4). Pelo fato de ter havido redução de condutância estomática nas plantas sadias (Figura 3A), mas nenhuma mudança no potencial hídrico foliar (Ψ_f), até as 14:00 h (Figura 4), pode-se supor que, exista interferência negativa da doença no “status” hídrico das plantas doentes sintomáticas e assintomáticas.

De acordo com Bergonci et al. (2000), o Ψ_f descreve o estado energético da água livre, cujos gradientes explicam os fluxos no *continuum* solo-planta-atmosfera, como também o estado hídrico total da planta, sendo muito utilizado em estudos das relações hídricas dos vegetais. Ainda, de modo geral, o potencial hídrico foliar (Ψ_f) apresentou mesmo padrão de resposta nas horas avaliadas, sendo maior de manhã

(6:00 h) e menor à tarde (14:00 h), concordando com a classificação dos citros como plantas aniso-hídricas, isto é, o potencial hídrico da planta diminui acentuadamente nas horas mais quentes pela maior demanda evaporativa (DPV) ao longo do dia (TARDIEU & SIMONEAU, 1998; BERGONCI et al., 2000).

Ferreira et al. (1999) observaram, em *Eucalyptus citriodora* (Hook), que os maiores valores de condutância estomática ocorrem quando o potencial hídrico da folha ainda não atingiu os valores mínimos passíveis de induzir o fechamento estomático. Em plantas doentes a condutância estomática foi reduzida, por que a doença, provavelmente, alterou o potencial hídrico das células-guarda com consequente aumento da pressão osmótica e diminuição do Ψ_f dessas células, conduzindo a menor abertura do ostíolo. Interessante verificar que estas alterações no potencial hídrico das plantas doentes não alteraram o processo fotossintético (Tabela 3). O efeito negativo da doença, no potencial hídrico e na condutância estomática, foi ameno a ponto de não interferir na condição hídrica da fotossíntese.

Quando se analisa as folhas velhas e novas, observa-se que, P, Mg e S não apresentaram diferença entre plantas sadias e plantas doentes, assintomáticas e sintomáticas (Tabela 6). E a análise de ramos velhos e novos, nota-se que, para P, K, Mg e S, não houve diferença entre os ramos de plantas doentes, assintomáticas e sintomáticas, e os ramos das plantas sadias (Tabela 6).

As folhas velhas e novas de plantas sadias não apresentaram diferença, para os teores de B e Zn, quando comparadas com as de plantas doentes. Já quando se avalia os ramos velhos e novos, pode-se observar que apenas o micronutriente Zn apresentou diferença entre os tratamentos (Tabela 7).

A interpretação para cada teor foliar determinado baseou-se no critério de faixas de suficiência, de acordo com o Grupo Paulista (1994):

- a-) Nitrogênio: Os teores foliares de N foram adequados em todas as plantas selecionadas, onde variaram de 23,2 a 30,8 g.kg⁻¹.
- b-) Fósforo: Os teores de P foram adequados em todas as plantas selecionadas, onde variaram de 1,3 a 1,8 g.kg⁻¹.

Tabela 6. Análise de variância dos macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg e S) determinados em seis períodos de avaliações (PA) das partes vegetativas (PV) de laranjeiras ‘Valência’ (P) sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB, Piracicaba, SP.

Causas da Variação	G.L.	Folhas						Ramos					
		N	P	K	Ca	Mg	S	N	P	K	Ca	Mg	S
Plantas (P) ¹	2	**	ns	ns	**	**	**	**	ns	ns	**	ns	**
Partes Vegetativas (PV) ²	1	ns	**	**	**	ns	**	ns	**	**	**	**	**
Períodos de Avaliação (PA) ³	5	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**
P x PV	2	*	ns	**	*	ns	ns	**	ns	ns	*	ns	ns
P x PA	10	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	**	**
PV x PA	5	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
P x PV x PA	10	**	**	**	**	*	**	**	**	**	**	**	**
CV ⁴ (%)		3,75	4,92	7,81	5,98	5,95	4,75	3,88	5,31	7,14	10,89	13,27	18,21

¹P: plantas sadias, sintomáticas e assintomáticas; ²PV: folhas jovens, folhas velhas, ramos jovens e ramos velhos; ³PA: períodos de avaliação 0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias da primeira análise em 11/2011. ns: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01);

⁴C.V.: Coeficiente de Variação.

Tabela 7. Análise de variância dos micronutrientes (B, Mn, Fe, Cu, Zn) determinados em seis períodos de avaliações (PA) das partes vegetativas (PV) de laranjeiras ‘Valência’ (P) sadias, doentes assintomáticas e doentes sintomáticas de HLB. Piracicaba, SP.

Causas da Variação	G.L.	Folhas					Ramos				
		B	Mn	Fe	Cu	Zn	B	Mn	Fe	Cu	Zn
Plantas (P) ¹	2	**	**	ns	**	*	ns	*	ns	*	**
Partes Vegetativas (PV) ²	1	**	**	**	**	**	ns	*	**	**	ns
Períodos de Avaliação (PA) ³	5	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
P x PV	2	ns	**	**	**	ns	ns	ns	ns	ns	**
P x PA	10	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
PVx PA	5	**	**	**	**	**	ns	*	**	**	**
P x PV x PA	10	**	**	**	**	**	*	**	**	**	**
CV ⁴ (%)		6,24	8,09	9,43	14,11	5,37	8,02	51,89	21,21	15,62	9,06

¹P: plantas sadias, sintomáticas e assintomáticas; ² PV: folhas jovens, folhas velhas, ramos jovens e ramos velhos; ³PA: períodos de avaliação 0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias da primeira análise em 11/2011. ^{ns}: não significativo (P > 0,05); * : significativo (P < 0,05); ** : significativo (P < 0,01); ⁴C.V.: Coeficiente de Variação.

- c-) Potássio: Os teores de K foram adequados na maioria das plantas amostradas. A variação foi de 8,2 a 13,3 g.kg⁻¹.
- d-) Cálcio: Os teores de Ca foram baixo para a maioria das plantas selecionadas, onde apenas duas análises foram adequadas. Os teores variaram entre 19,6 e 36,9 g.kg⁻¹.
- e-) Magnésio: Os teores de Mg foram adequados para todas as plantas avaliadas, variando de 3,0 a 4,6 g.kg⁻¹.
- f-) Enxofre: Para esse nutriente, os teores foram adequados em todas as plantas selecionadas. Os resultados variaram de 2,0 a 3,0 g.kg⁻¹.
- g-) Boro: Algumas plantas mostraram excesso do nutriente, mas as demais encontraram-se em níveis adequados, variando de 58,2 a 170,2 mg.kg⁻¹.
- h-) Manganês: Apenas uma análise estava no nível adequado, todas as outras plantas apresentaram teores baixos, a variação foi de 18,6 a 40,5 mg.kg⁻¹.
- i-) Ferro: Os teores de Fe foram adequados para todas as plantas avaliadas, os níveis do nutriente estiveram entre 71,9 a 187,2 mg.kg⁻¹.
- j-) Cobre: Poucas análises encontravam-se em níveis adequadas, a maioria das plantas apresentaram excesso desse nutriente, variando de 8,7 a 21,5 mg.kg⁻¹.
- k-) Zinco: Os teores de Zn para 27% das plantas avaliadas foram baixos, as demais apresentaram níveis adequados, variando de 18,2 a 110,1 mg.kg⁻¹.

Observando o nitrogênio percebe-se que, as folhas das plantas doentes, assintomáticas e sintomáticas, mostraram teores menores quando comparadas com as folhas de plantas saudáveis. Ao longo das avaliações houve uma diminuição na concentração de N presente nas folhas, para todos os tratamentos analisados, porém as plantas sintomáticas exibiram concentrações de N ainda menores (Figura 5). Tal efeito pode estar relacionado com a baixa transpiração já relatada anteriormente, uma vez que o fluxo de nutrientes pelo interior das plantas pode ter diminuído também. A produção de frutos dos citros é influenciada pelo suprimento de nitrogênio pelo fato desse nutriente regular a taxa fotossintética e a síntese de carboidratos (KATO, 1986), contudo as plantas doentes não apresentaram taxas de assimilação de carbono (A) menor que as plantas saudáveis.

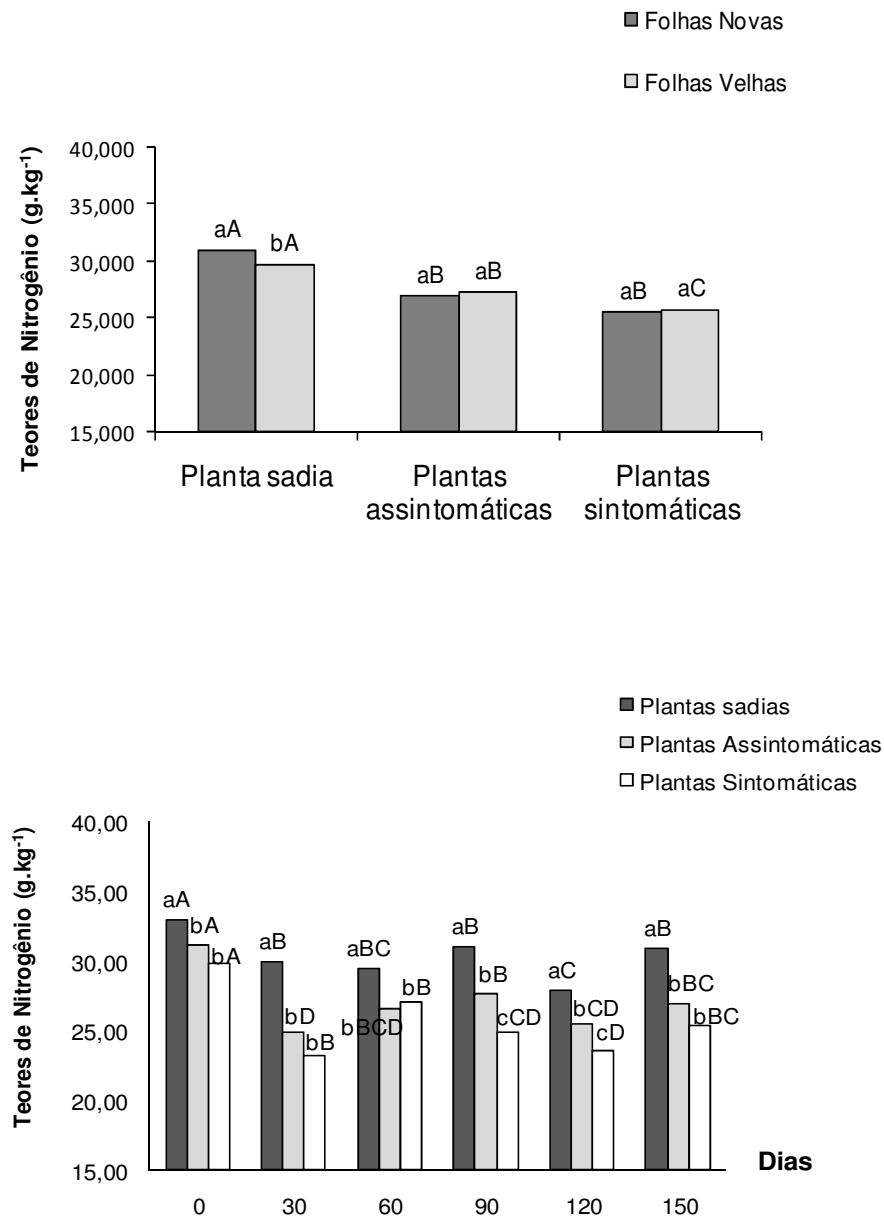


Figura 5. Teores de N de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

De acordo com Quaggio et al. (2003), nas folhas de citros a concentração de N adequada varia de 23 a 27 g.Kg⁻¹, assim podemos dizer que, mesmo com o efeito negativo da doença sobre as plantas, os teores de nitrogênio estiveram dentro dos níveis adequados para citros, portanto conclui-se que há uma diferença entre plantas saudas e doentes, sintomáticas e assintomáticas, porém não suficiente para afetar o nível do elemento na planta. Esse resultado mostra um dos possíveis motivos pela qual a fotossíntese não foi afetada pelo HLB, uma vez que o nitrogênio faz parte da composição das moléculas de clorofila.

Verifica-se que, as folhas novas apresentaram teores maiores de N tanto em plantas saudas como em plantas doentes (Figura 6). Legaz et al. (1995) demonstraram que mais de 70% do N acumulado nos órgãos novos, desenvolvidos durante a primavera, foram oriundos do N armazenado em órgãos velhos, ou seja, foram remobilizados na planta, e os principais órgãos de reserva do nutriente foram as folhas velhas, contribuindo com cerca de 40-50% do total do N remobilizado na planta. Podemos dizer que a redistribuição do nutriente não foi muito eficaz em plantas doentes, assim, é natural que as folhas dessas plantas apresentem menores concentrações de nitrogênio.

Quando se analisa os teores de nitrogênio presente nos ramos de plantas saudas e doentes (Figura 6) percebe-se que, em plantas saudas esses valores são maiores. Em plantas doentes, assintomáticas e sintomáticas, os ramos novos exibem concentrações maiores de N. Pode-se afirmar que a doença interfere na distribuição do nutriente no interior das plantas, afinal, os órgãos velhos armazenam o nutriente (LEGAZ, et al. 1995). As concentrações de N ao longo das avaliações foram iguais as de folhas, onde com o passar das análises os teores foram diminuindo. Esse resultado pode ser atribuído ao fato que, as partes vegetativas coletadas não eram sempre as mesmas, assim uma variação teria que ocorrer.

Os teores de fósforos presentes nas folhas não apresentaram diferença entre plantas saudas e doentes, assintomáticas e sintomáticas (Figura 7), porém ao decorrer das avaliações nota-se que as plantas saudas apresentaram concentrações mais altas do nutriente que as plantas doentes. Talvez isso possa ser explicado devido taxas altas de P no solo na camada de 0-20 cm. O fósforo, por sua vez, é o nutriente que as plantas requerem em menor quantidade.

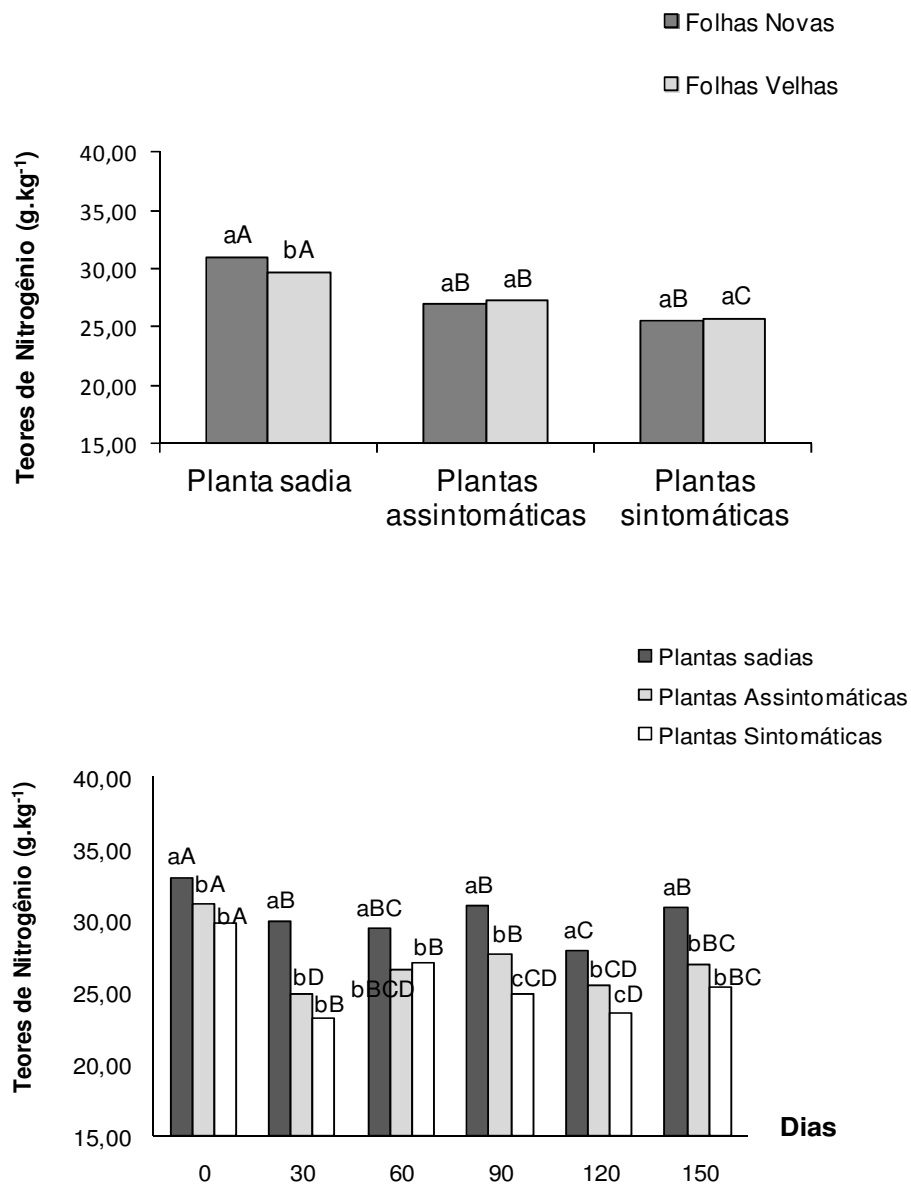


Figura 6. Teores de N de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ saudias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

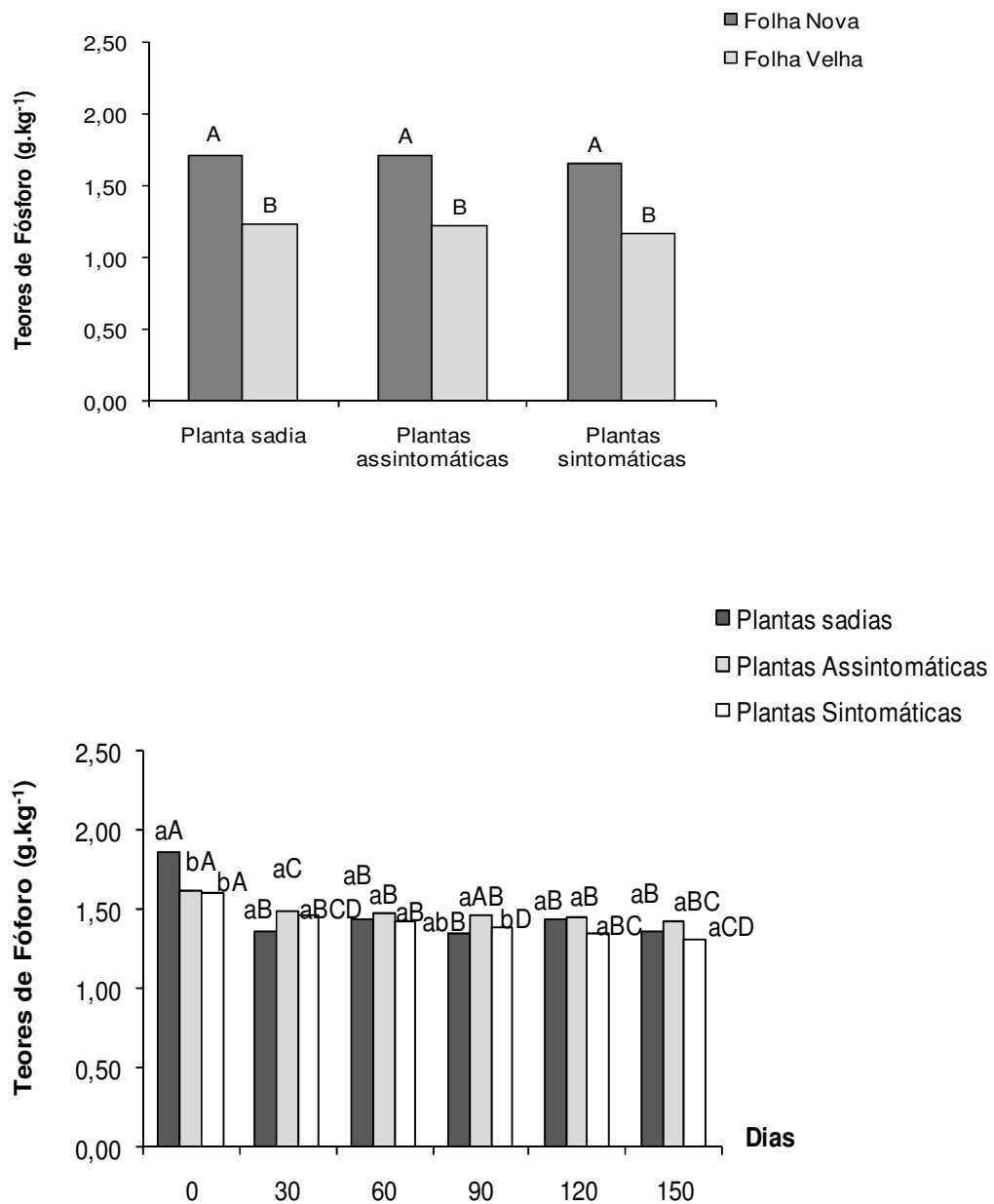


Figura 7. Teores de P de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Analisando o comportamento do fósforo nos ramos velhos e novos, percebe-se que não houve diferença entre os tratamentos, porém, ao decorrer das análises, na primeira avaliação, aos 30 e 150 dias após o início do tratamento percebe-se que os teores de P nos ramos de plantas sadias foram maiores que os de plantas doentes. Percebe-se que, somente em alguns momentos a doença interferiu negativamente a ponto das plantas apresentarem teores mais baixos que as plantas sadias, mas mesmo assim os valores ainda encontraram-se dentro do padrão de teores adequados (Figura 8).

As taxas de concentração de potássio observadas nas folhas revelam que, não houve diferença entre plantas sadias e doentes, assintomáticas e sintomáticas (Figura 9). Nota-se que, houve diferença quando comparamos apenas as taxas dentro das folhas, ou seja, as folhas novas apresentaram concentrações de K maiores que as folhas velhas. A manutenção do turgor celular requer a presença do íon K, responsável pela abertura estomática, fundamental para a captação do CO₂. Logo, a deficiência de K leva ao fechamento dos estômatos, redução do fluxo CO₂ na folha, restrição fotossintética e menor acúmulo de sacarose e matéria seca (CASTRO, 2000; RODRIGUES, 2005), efeito observado nesse estudo, onde plantas doentes apresentaram menor condutância estomática, porém a fotossíntese não foi afetada, e todas as plantas apresentaram mesmo comportamento tanto para a taxa fotossintética quanto para o potássio.

Ao longo das avaliações verificou-se que, em folhas de plantas sadias apresentaram maiores taxas de concentrações de potássio na primeira avaliação, depois ocorreu leve diminuição na concentração do mesmo. Já as de plantas assintomáticas exibiram concentrações maiores que as plantas sintomáticas, assim pode-se afirmar que a doença, em níveis mais avançados, não afetou a disponibilidade de K na planta (Figura 9). O maior teor de K nas plantas sintomáticas pode-se relacionar com o menor fluxo do nutriente para os drenos, como por exemplo, os frutos, visto o bloqueio do floema em plantas com HLB (Figura 10), contudo houve evidência que a redistribuição dos nutrientes foi afetada pela doença. Em ramos observa-se pela Tabela 5, que não houve diferença entre os tratamentos.

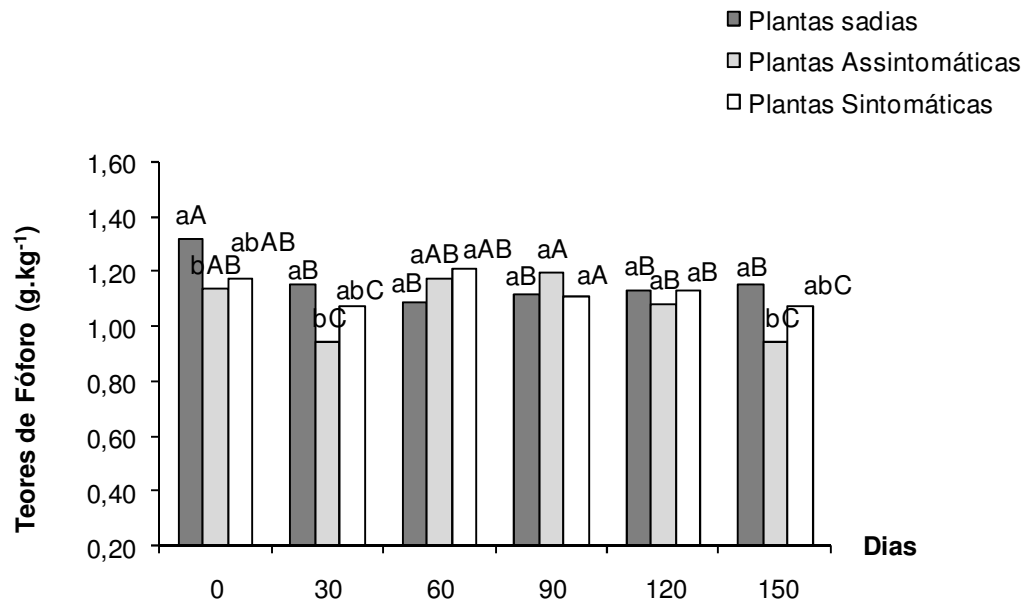


Figura 8. Teores de N de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ saudáveis, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

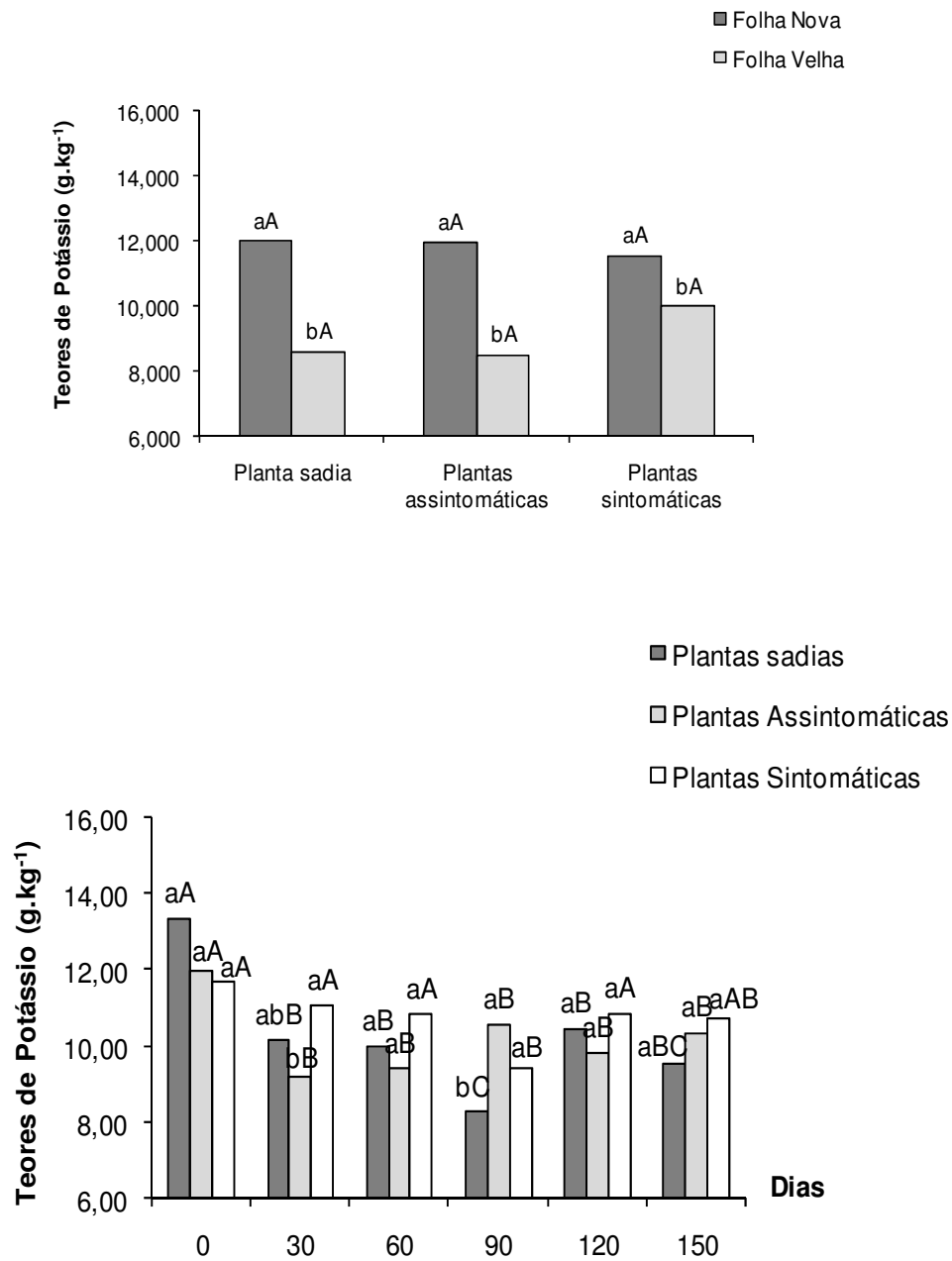


Figura 9. Teores de K de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ saudias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

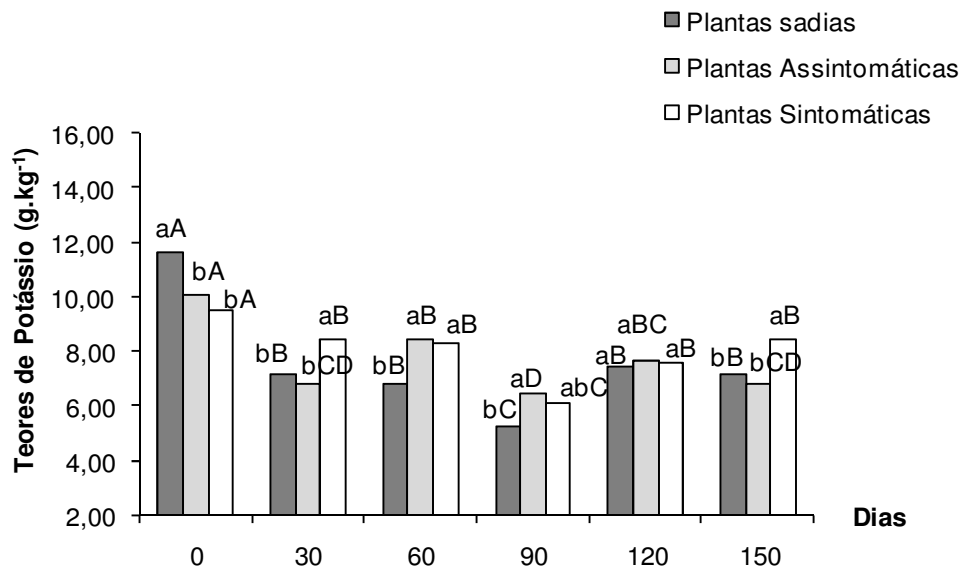


Figura 10. Teores de K de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ saudáveis, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

O conteúdo de N, P e K em folhas senescentes foi, consideravelmente, menor do que aquele encontrado em folhas novas (Figuras 5, 7 e 9), o que caracteriza a translocação destes elementos de tecidos maduros para os mais jovens (CASTRO, 2000).

As folhas velhas mostraram teores de cálcio maiores que as jovens, uma vez que o nutriente é pouco móvel na planta. O estudo revela que em plantas doentes, sintomáticas e assintomáticas, os teores sempre estiveram mais baixos (Figura 11). Malavolta (1987) afirma que o cálcio estimula o desenvolvimento das raízes, aumenta a resistência a pragas e doenças, auxilia na fixação de nitrogênio e aumenta o pegamento da florada, assim verifica-se que os resultados do presente revelou que, plantas doentes apresentaram taxas menores do elemento.

Ao decorrer das avaliações observa-se que o nutriente mostrou algumas oscilações, onde aos 30, 90 e 150 dias após a primeira avaliação, os teores de Ca em folhas de plantas sadias voltaram a aumentar, enquanto que nas folhas de plantas doentes isso não aconteceu (Figura 11). As concentrações desse elemento nos ramos, ao decorrer das avaliações, diminuíram, e as plantas doentes mostraram teores ainda mais baixos quando comparadas com os ramos de plantas sadias (Figura 12). Sabe-se que, os teores de Ca aumentam nas folhas maduras com o passar do tempo (SMITH, 1966). A carência de cálcio leva à formação de raízes mal desenvolvidas, atraso no desenvolvimento da planta e morte descendente dos ramos (MAGALHÃES, 2006), assim, pode-se justificar que plantas doentes apresentaram taxas de transpiração mais baixas (Figura 3B), uma vez que as raízes possam estar comprometidas e o *continuum* solo – planta – atmosfera pode ficar prejudicado.

Nota-se que os macronutrientes, Mg e S, presentes nas folhas e ramos não apresentaram diferença entre os tratamentos (Tabela 6). Verifica-se que os teores de magnésio ao decorrer das avaliações mostraram-se mais elevados em plantas sadias quando comparados com as plantas doentes, talvez devido à diferença de coleta das partes vegetativas ao longo das análises (Figura 13 A). As folhas novas exibiram taxas de concentrações mais elevadas de Mg ao decorrer das avaliações, onde houve apenas uma ligeira diminuição aos 90 e 120 dias após a primeira

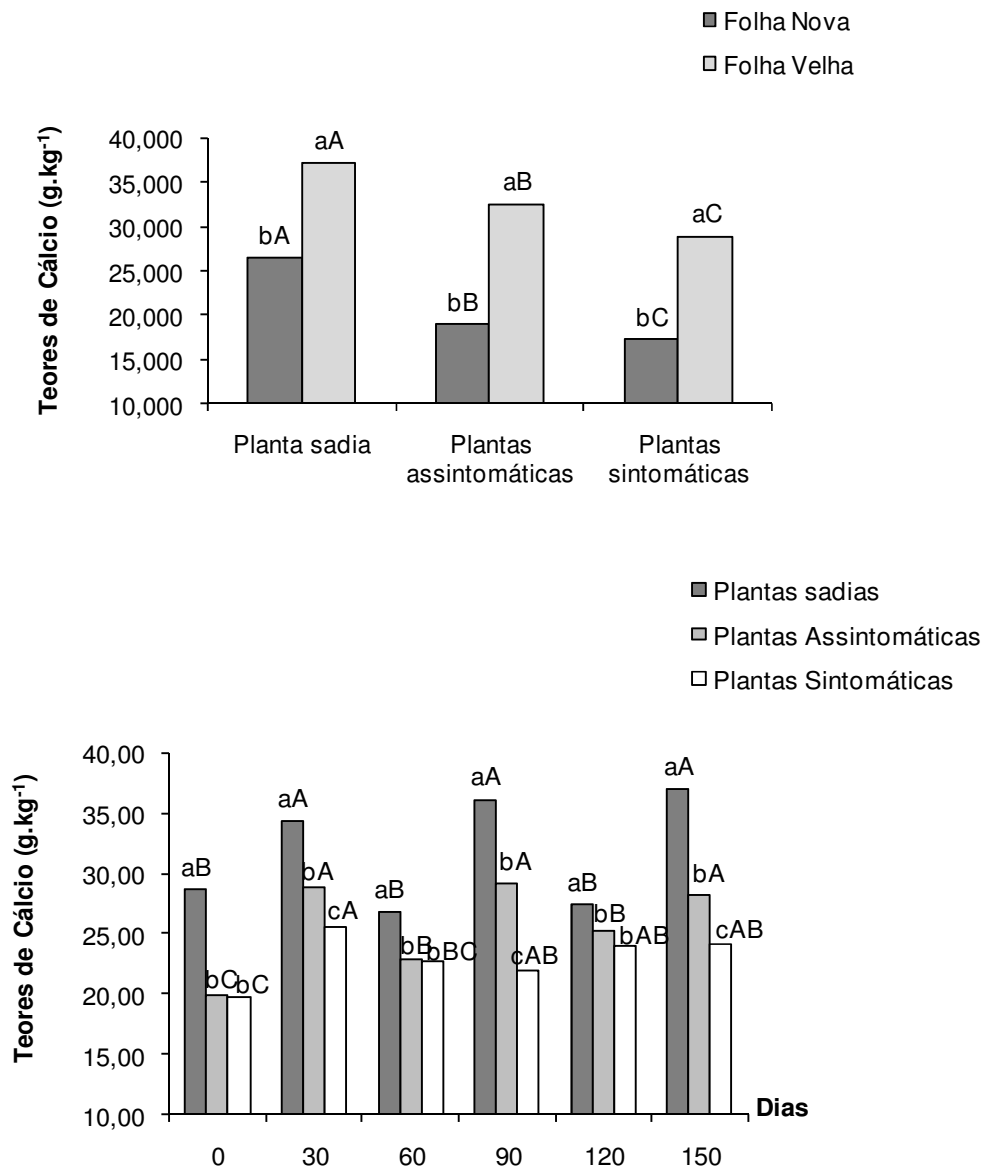


Figura 11. Teores de Ca de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ saudias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

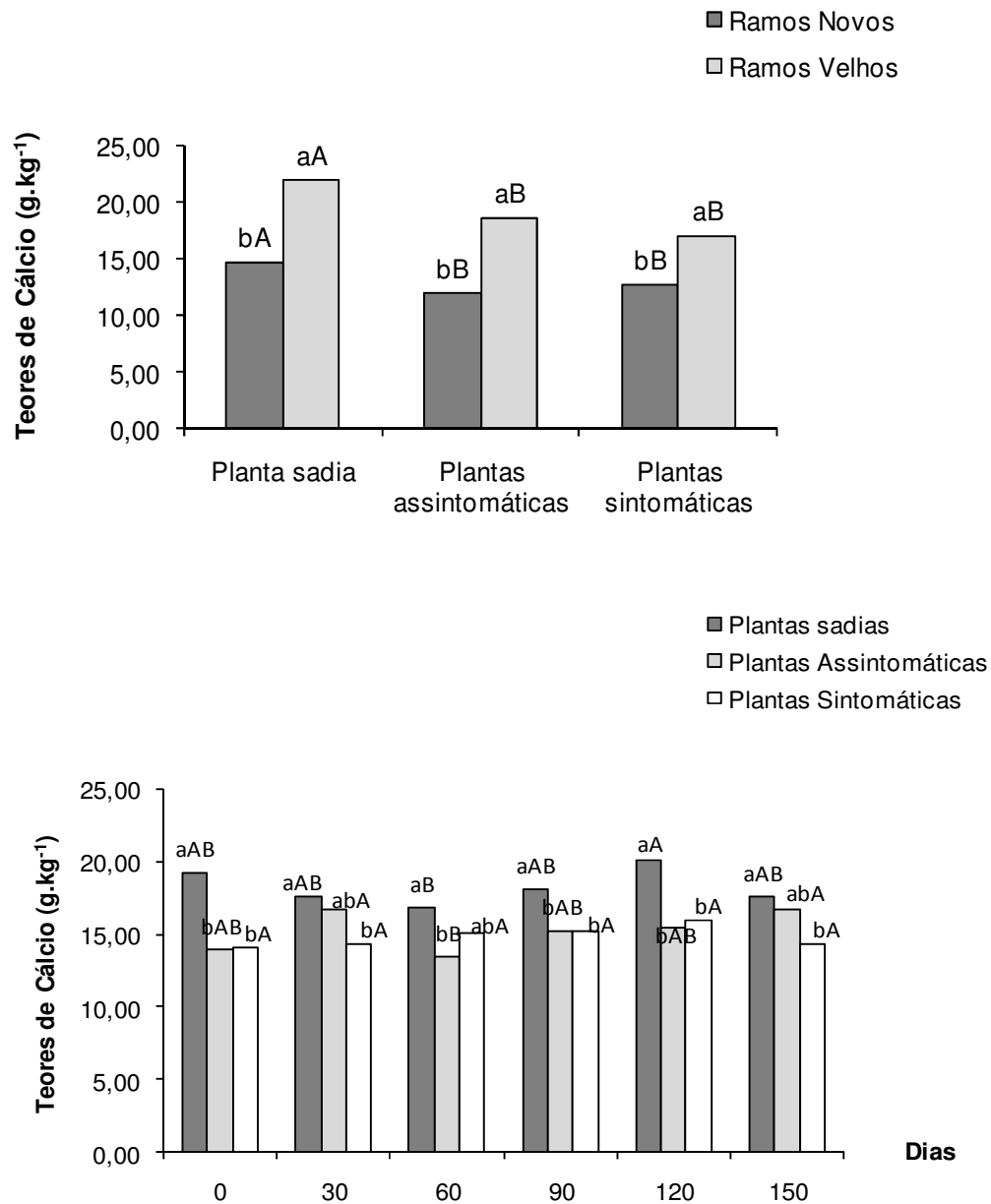


Figura 12. Teores de Ca de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

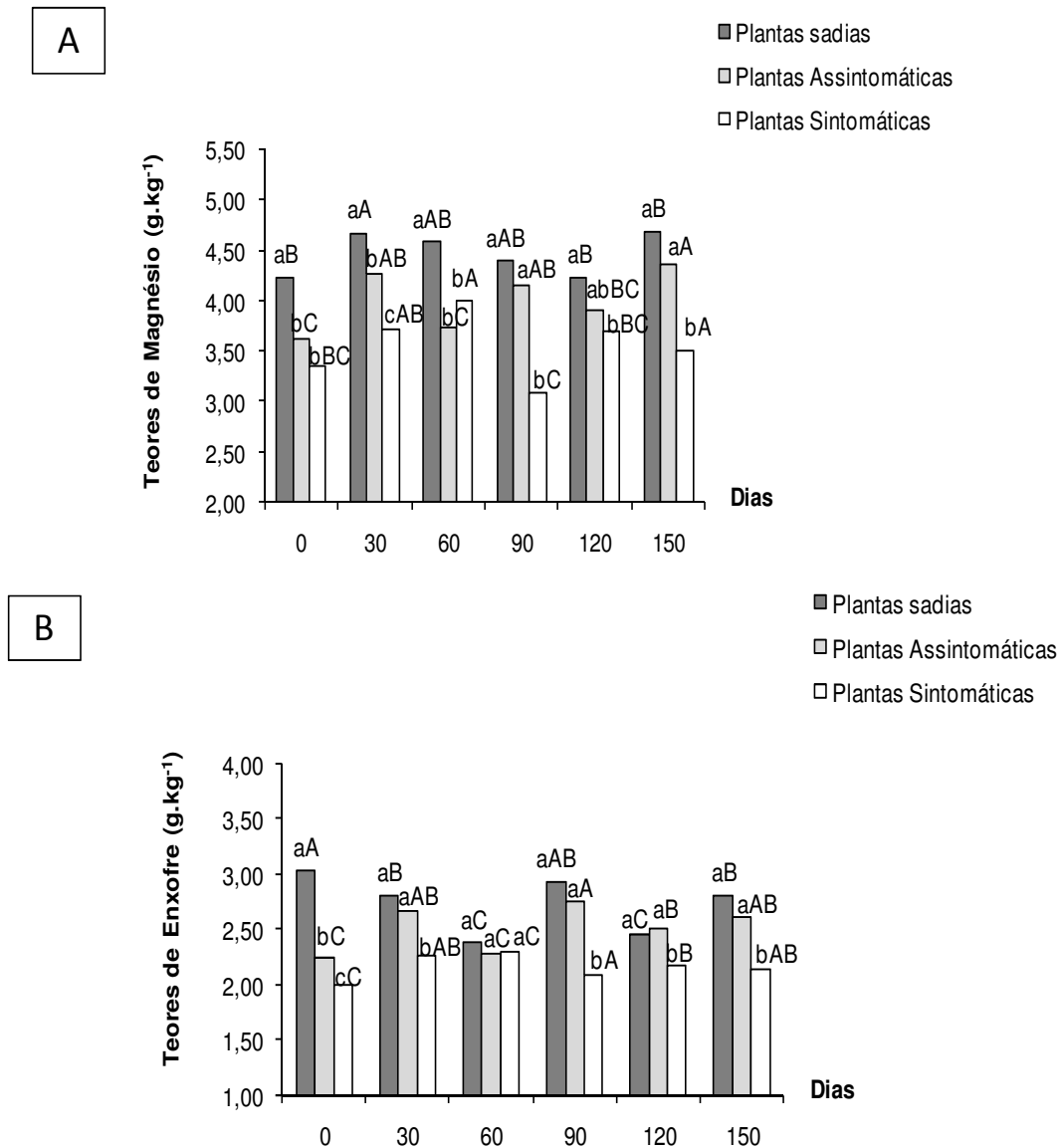


Figura 13. Teores de Mg (A) e S (B) de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

análise foliar (Figura 13A). Quando as taxas de concentração de Mg presente nos ramos são analisadas, percebe-se que, os valores mais elevados encontravam-se nos tecidos velhos na maioria dos resultados, e somente aos 90 e 120 dias após a primeira análise de nutrientes o efeito foi observado em ramos novos. (Figura 14B).

As taxas de concentração de enxofre, tanto em folhas como em ramos, apresentaram mesmo comportamento onde não houve diferença entre as plantas sadias e doentes (Tabela 6), assim nota-se apenas diferença ao decorrer das análises dos nutrientes. Apenas aos 90 dias, após a primeira avaliação, os valores da concentração de S em folhas velhas e novas não apresentaram diferença, enquanto que nas demais avaliações as folhas velhas exibiram maiores taxas de concentrações do nutriente (Figura 13B).

Durante todas as avaliações realizadas para as folhas, as plantas sadias mostraram taxas de concentração de enxofre maiores que as plantas doentes, assim mais uma vez podemos dizer que o HLB interferiu na redistribuição dos nutrientes. O interessante que Magalhães (2006) revela que não é comum relatos em campos da deficiência deste nutriente, uma vez, que o mesmo é fornecido pelo uso de defensivos agrícolas e adubos, portanto corrobora com o efeito encontrado, onde a doença interferiu na quantidade de S, mas não o suficiente para este apresentar teores baixos.

Plantas sadias apresentaram taxas de concentrações de magnésio e enxofre maiores que as plantas doentes, sendo que as sintomáticas continham taxas ainda menores. Isto pode estar relacionado com a redução do fluxo de seiva do floema devido o acúmulo de caloses nas plantas infectadas, o que impede que alguns elementos sejam redistribuídos ou então, que fiquem acumulados em algumas partes das plantas.

Tanto para B como para Mn as folhas novas de plantas doentes, sintomáticas e assintomáticas, apresentaram taxas de concentração menores quando comparadas com as folhas de plantas sadias (Figura 15 e 16). Os teores nas folhas velhas não demonstraram diferença entre os tratamentos, devido à imobilidade e ausência de redistribuição do elemento, os sintomas de deficiência ou baixo teor ocorrem nas folhas novas, ou até mesmo devido à má formação das raízes, influenciando também a absorção dos nutrientes. Percebe-se que ao longo das

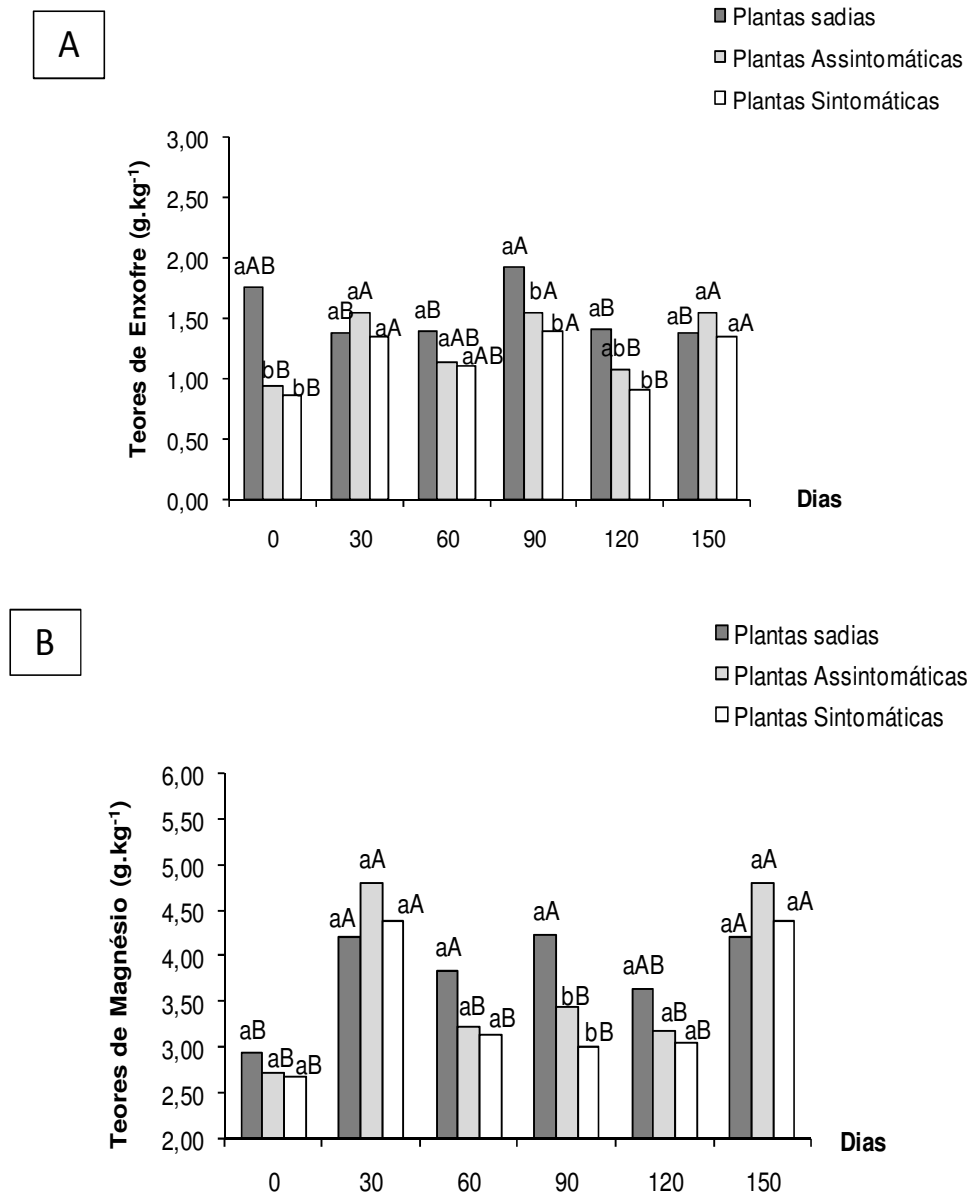


Figura 14. Teores de Mg (A) e S (B) de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

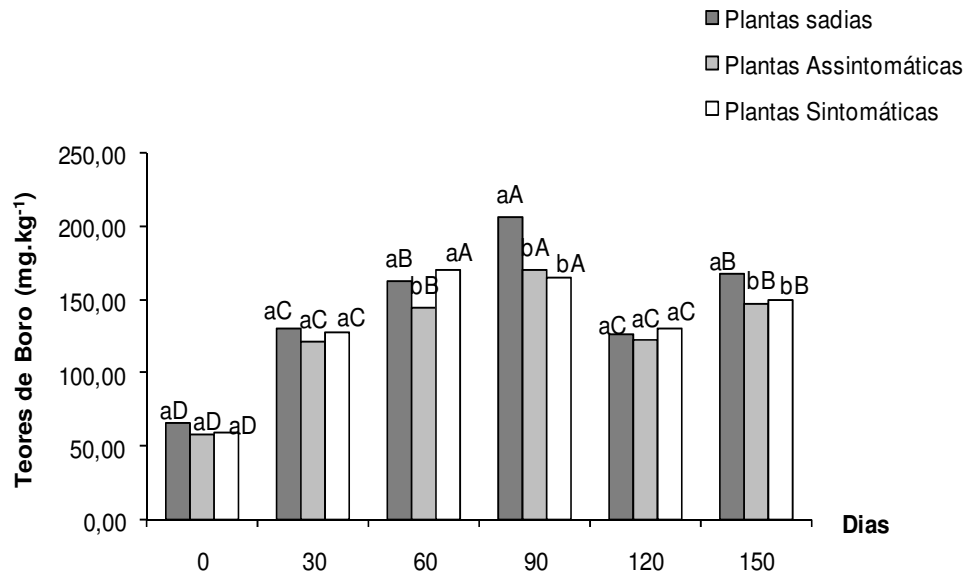


Figura 15. Teores de B de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ saudas, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

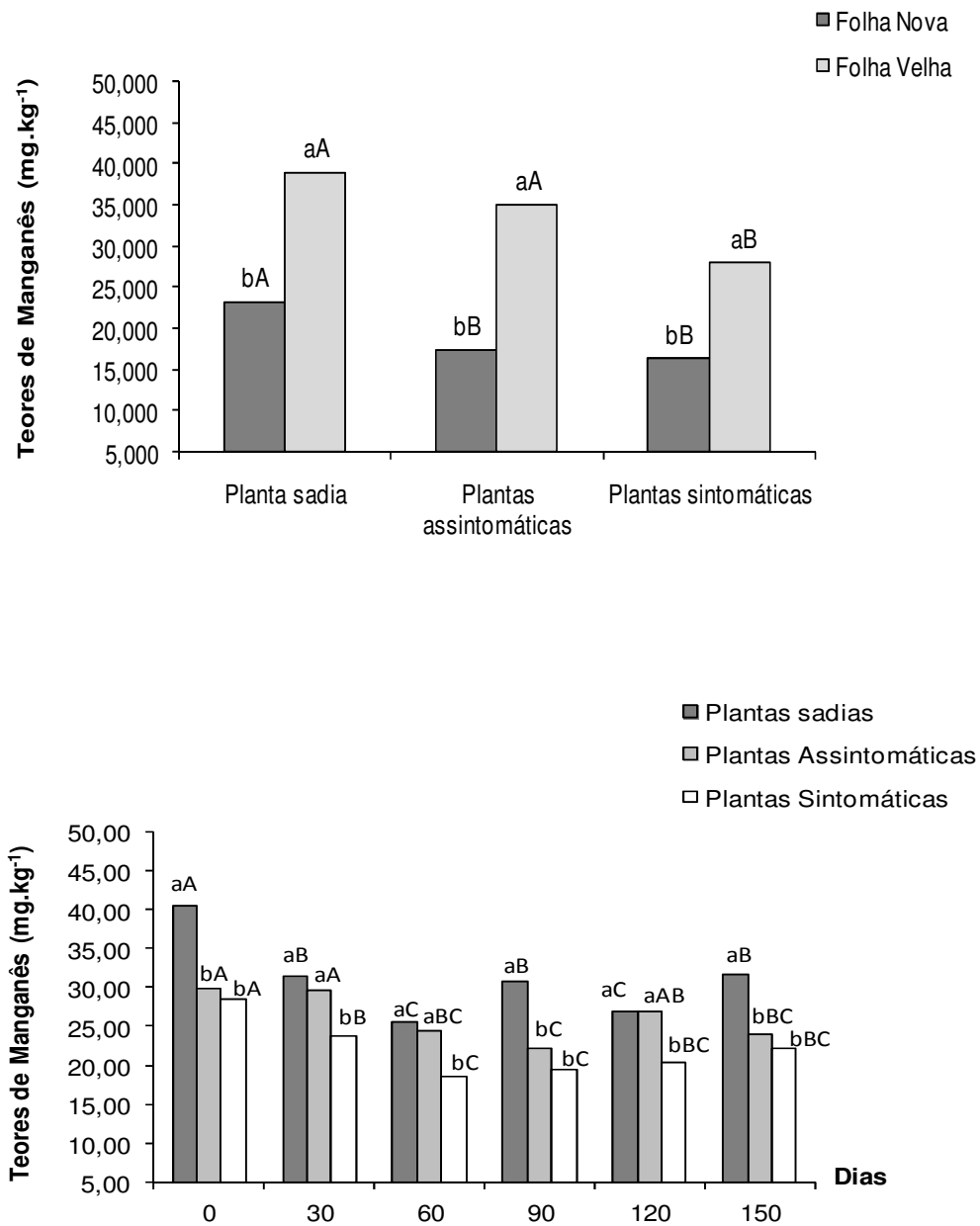


Figura 16. Teores de Mn de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

análises os teores de boro só tendem a aumentar em todas as folhas de plantas avaliadas (Figura 15). Gravena et al. (1997) afirmam que nutrientes pouco móveis mostram taxas de concentração maiores em folhas de plantas muito afetadas, por doenças ou pragas.

O crescimento radicular é resultante dos processos de divisão e alongação celular. De acordo com Shelp (1993), o boro é necessário em ambos os processos, e a ocorrência de deficiência inibe o desenvolvimento das raízes. Assim, pode-se associar a baixa concentração de boro, nas folhas de plantas doentes, com o baixo potencial hídrico das mesmas. Talvez plantas de HLB com taxas menores de boro possam ter raízes menos desenvolvidas. Ainda, Shelp (1993) relata que o B facilita a translocação de carboidratos devido sua facilidade de ligação com os mesmos, podendo assim formar complexos que atravessam facilmente a membrana celular.

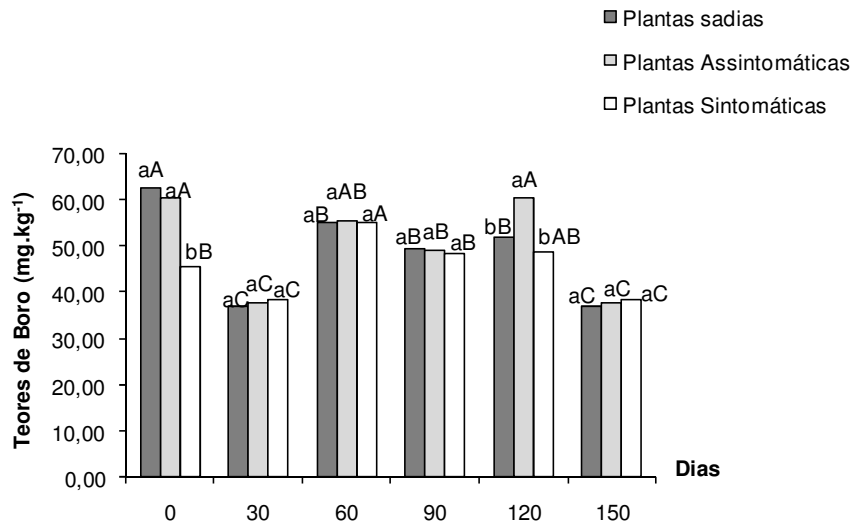
Para as análises de boro, em ramos, houve apenas diferença entre as plantas sadias e doentes ao decorrer dos dias de avaliações, onde na primeira houve maiores taxas de concentração do elemento para todas as plantas avaliadas. Apenas aos 120 dias após a 1ª avaliação, os teores das plantas assintomáticas foram maiores que as plantas sadias e sintomáticas (Figura 17A).

Nota-se que as folhas de plantas sintomáticas apresentaram taxas de concentração menores de manganês. Podemos dizer também que para as folhas novas, todas as plantas doentes estiveram com níveis mais baixo do que as folhas de plantas sadias (Figura 16). Ao decorrer das avaliações houve um decréscimo nos teores de Mn em todas as folhas avaliadas, porém na última avaliação houve um acentuado incremento nos níveis desse nutriente em plantas sadias (Figura 16). Talvez pelo fato do manganês ser pouco móvel na folha, pode-se ter coletado folhas onde não havia translocação, por isso que algumas plantas mostraram níveis mais altos do micronutriente nessa avaliação. (MAGALHÃES, 2006).

Quando avalia-se apenas o conteúdo de Mn nas folhas no decorrer dos dias, nota-se que, os tecidos mais velhos apresentaram maiores taxas de concentração, afinal esse micronutriente é pouco móvel na planta, e então tendem a acumular-se nos tecidos mais velhos. Os teores de manganês presente nos ramos apresentaram

diferença somente entre a primeira avaliação e as demais, ou seja, as análises realizadas a partir de 30 dias mostraram taxas de concentração menores, porém

A



B

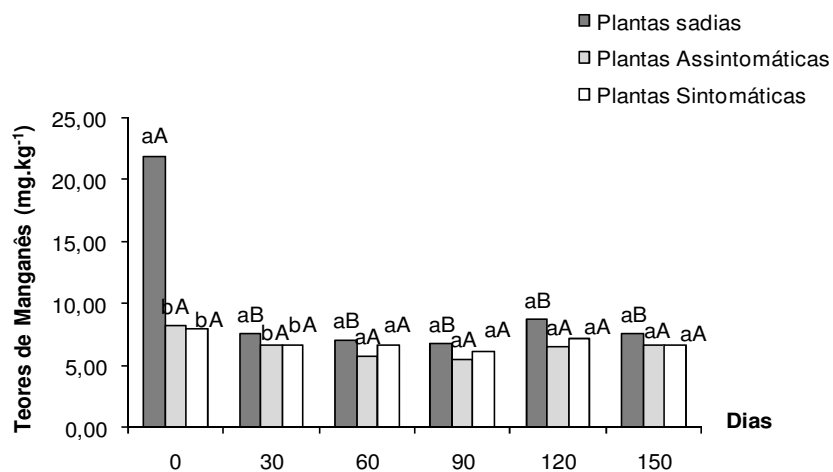


Figura 17. Teores de B (A) e Mn (B) de ramos velhos e novos de laranjeiras 'Valência' sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações

(0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

não diferiram até a última avaliação, aos 150 dias (Figura 17 B), para todas plantas, sadias e doentes. Nota-se que os ramos velhos também apresentaram teores mais altos do micronutriente ao decorrer dos dias.

Para o micronutriente Fe não houve diferença entre as plantas sadias e doentes quando avalia-se as folhas novas, porém as taxas de concentração encontradas nas folhas velhas foram curiosas, cuja das plantas sadias apresentaram teores mais baixos que as folhas de plantas doentes, sintomáticas e assintomáticas (Figura 18). Sabe-se que o excesso de cobre provoca danos às raízes, pode inviabilizar a absorção de ferro (MAGALHÃES, 2006). Podemos perceber que ao longo das análises houve excesso de cobre, talvez devido às pulverizações excessivas para controle de doenças como pinta preta, prevenção de cancro cítrico, entre outras. Contudo, esse ocorrido pode ter promovido mais uma vez diminuição nas taxas de concentração de ferro, e isso talvez, também possa ter inviabilizado as raízes das plantas, promovendo déficit hídrico na planta.

As taxas de concentração de Fe nas folhas velhas ao decorrer das avaliações foram menores, enquanto que em folhas novas houve apenas oscilações. Os resultados observados em ramos, velhos e novos, foi o mesmo que em folhas (Figura 20). Nota-se que as folhas velhas de plantas assintomáticas apresentaram taxas de concentração mais altas de Cu, enquanto que em folhas novas somente as plantas sadias mostraram tal resultado (Figura 19).

As concentrações de zinco nas folhas velhas não apresentaram diferença entre as plantas sadias e doentes, já em folhas novas as plantas sadias mostraram taxas maiores (Figura 21). A deficiência de Zn pode ser generalizada nos pomares brasileiros, principalmente na variedade Pêra, mais sensível ao vírus da tristeza, o qual prejudica o transporte do Zn na planta. Plantas cítricas com carência de Zn brotam menos e ficam com enfolhamento velho e pouco vigoroso, com redução do crescimento da copa e da produção (Quaggio et al., 2003). Nota-se que aos 60 e 120 dias após a primeira avaliação nutricional, houve um incremento nos teores do micronutriente apenas em folhas novas (Figura 21).

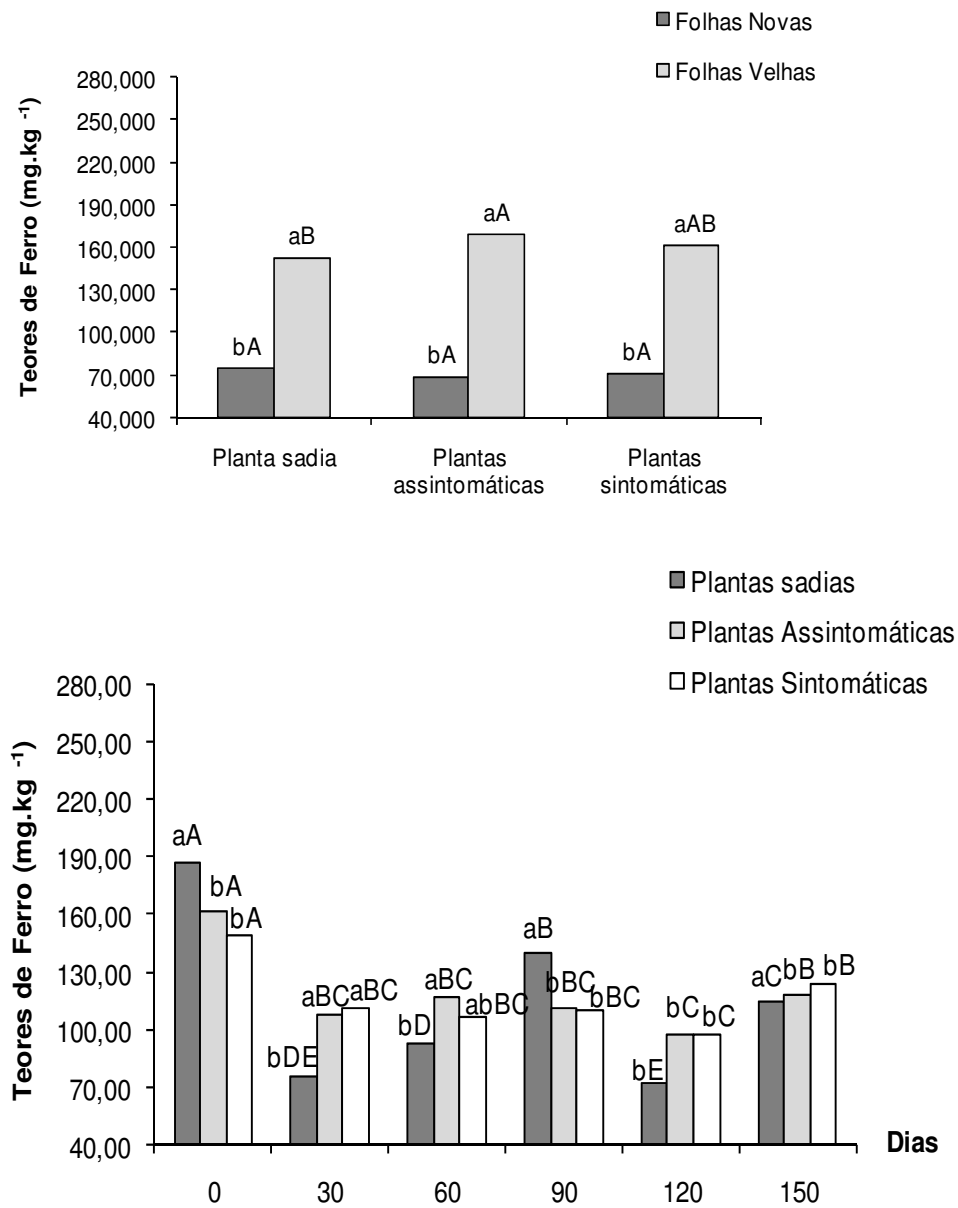


Figura 18. Teores de Fe de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

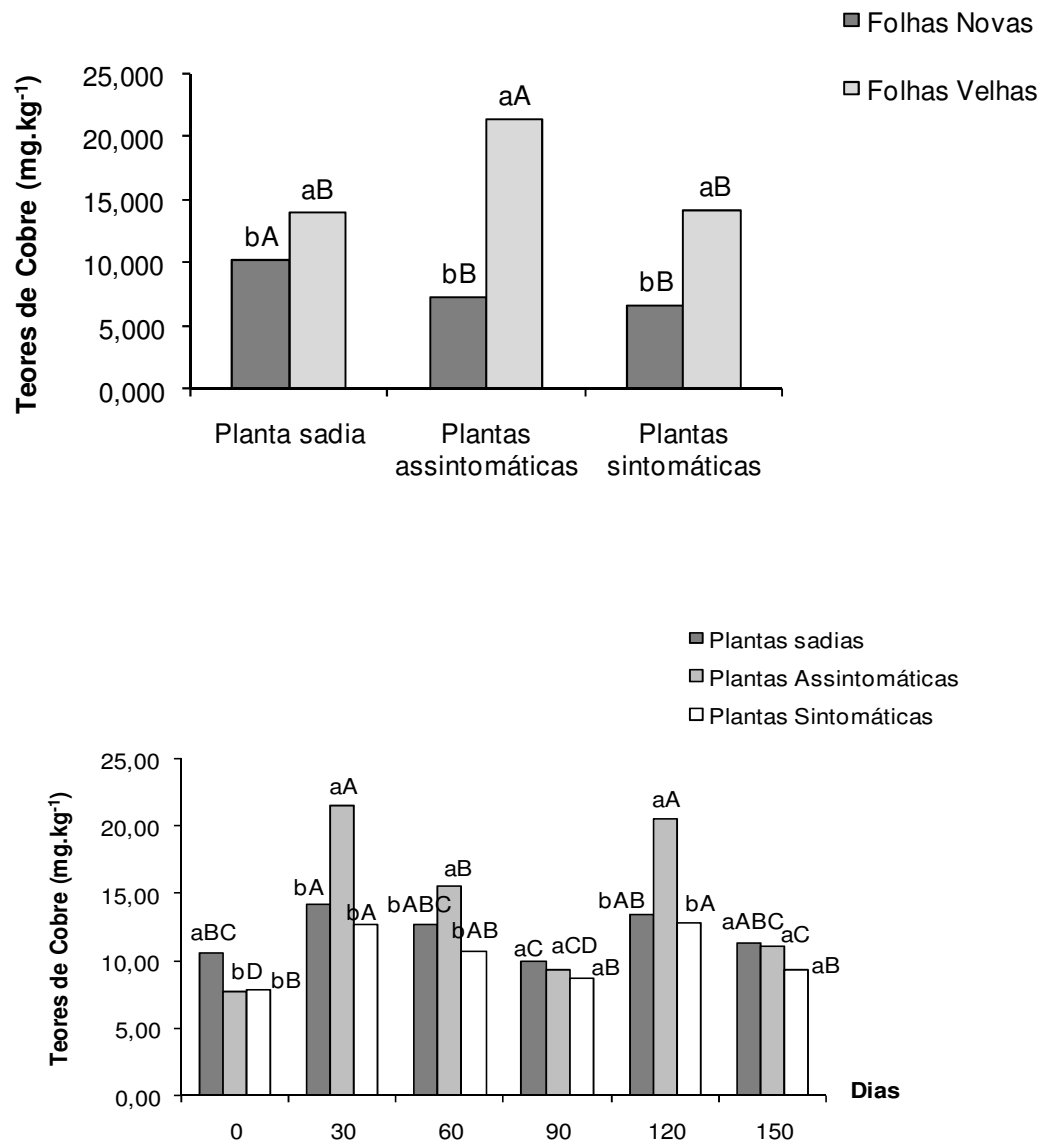


Figura 19. Teores de Cu de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

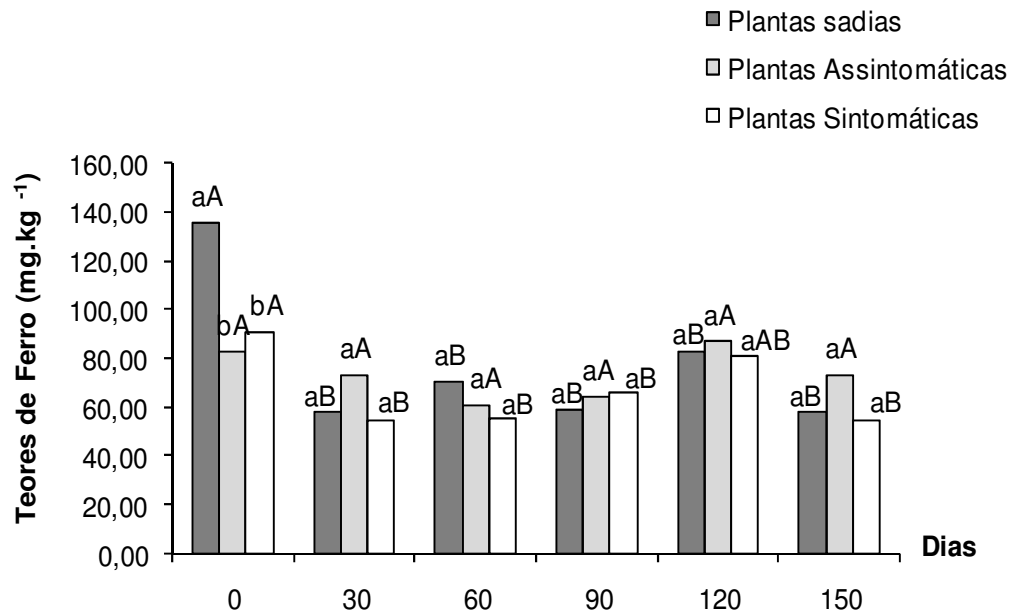


Figura 20. Teores de Fe de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

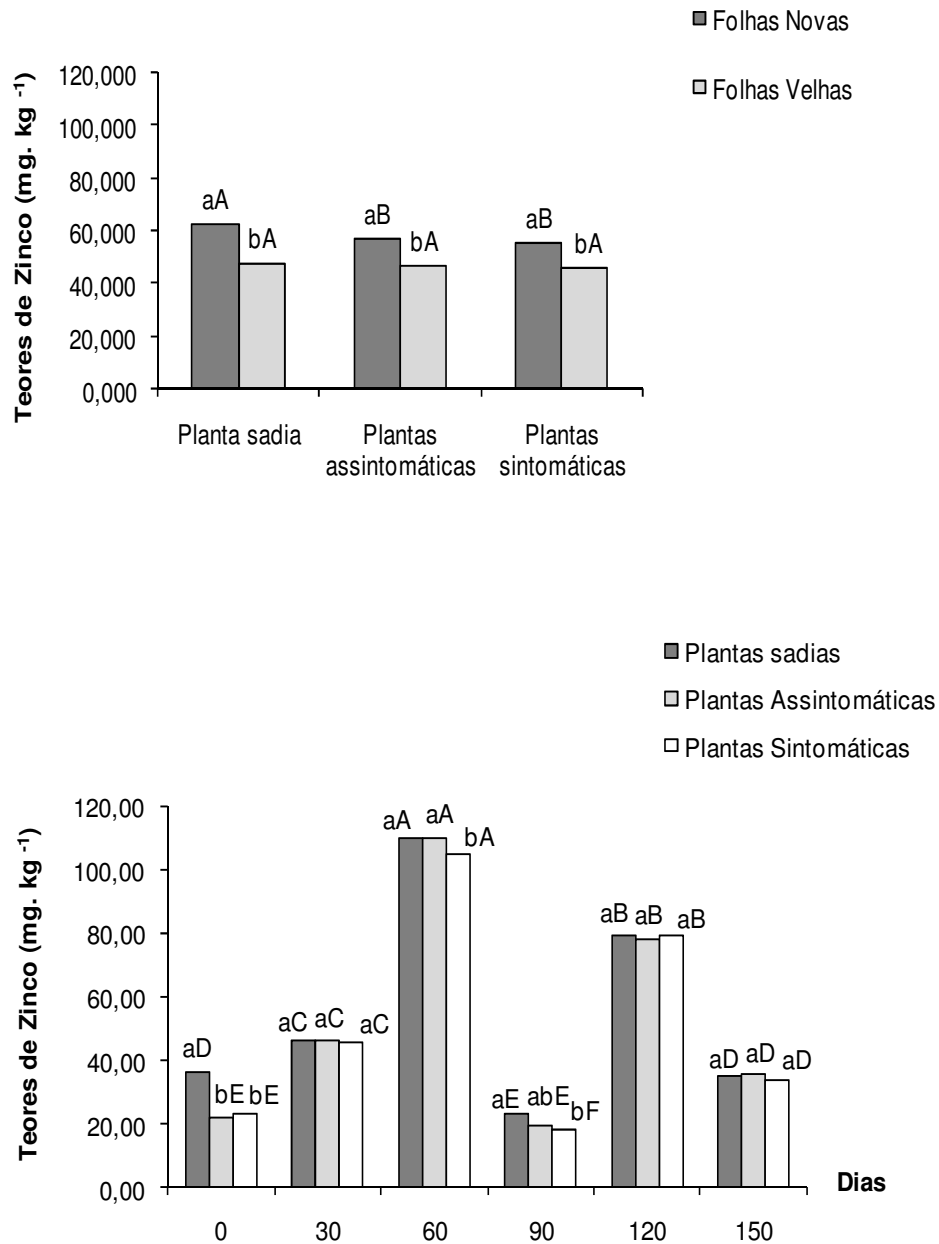


Figura 21. Teores de Zn de folhas velhas e novas de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Os teores de zinco encontrados em ramos novos e velhos foram sempre superiores em plantas sadias do que em plantas doentes. Verifica-se que com o decorrer dos dias de avaliações esses teores diminuíram (Figura 22).

Embora as concentrações dos elementos minerais estejam dentro de um intervalo normal, quando comparado com o padrão nutricional cítrico, estes resultados mostraram que os problemas de absorção, transporte e redistribuição estiveram presentes nas plantas com o HLB. A redução de alguns nutrientes, macro ou micro, em plantas com o HLB pode ser relacionado a uma redução da absorção dos mesmos pelas raízes devido à transpiração reduzida.

Os resultados, apresentados na figura 23, evidenciaram, menores taxas de concentração de N, P, Ca, Mg, B, Mn e Cu nas flores de plantas doentes (assintomáticas e sintomáticas) em comparação com os teores dos nutrientes determinados nas plantas sadias. A redução na concentração de nutrientes móveis (N, P, Mg) como pouco móveis no floema (Ca e B), evidenciou que a absorção e a distribuição de nutrientes foram reduzidos em tecidos jovens, assim justificam os sintomas encontrados. Os nutrientes estão envolvidos na ativação/inativação de enzimas relacionadas à biossíntese e metabolismo de fitohormônios, auxinas, giberelinas e citocininas, que regulam o abortamento dos órgãos vegetais. Pode-se verificar que a doença apresentou interferência negativa nos teores de alguns macros e micronutrientes nas flores (Figura 23).

Sabendo que a deficiência dos elementos móveis implica expressão dos sintomas nas folhas velhas, pode-se associar talvez o mosqueamento do HLB com o baixo teor de nitrogênio, ou até mesmo com o excesso de amido, resultado esse já relatado por Etxeberria et al. (2009).

Legaz et al. (1995) demonstraram que mais de 70% do N acumulado nos órgãos novos, como flores por exemplo, foram oriundos do N armazenado em órgãos velhos, ou seja, foram remobilizados na planta, e os principais órgãos de reserva do nutriente foram as folhas velhas, assim verifica-se o efeito da doença nesse movimento, uma vez o floema está comprometido pela bactéria os nutrientes móveis não se redistribuem igualmente pela planta.

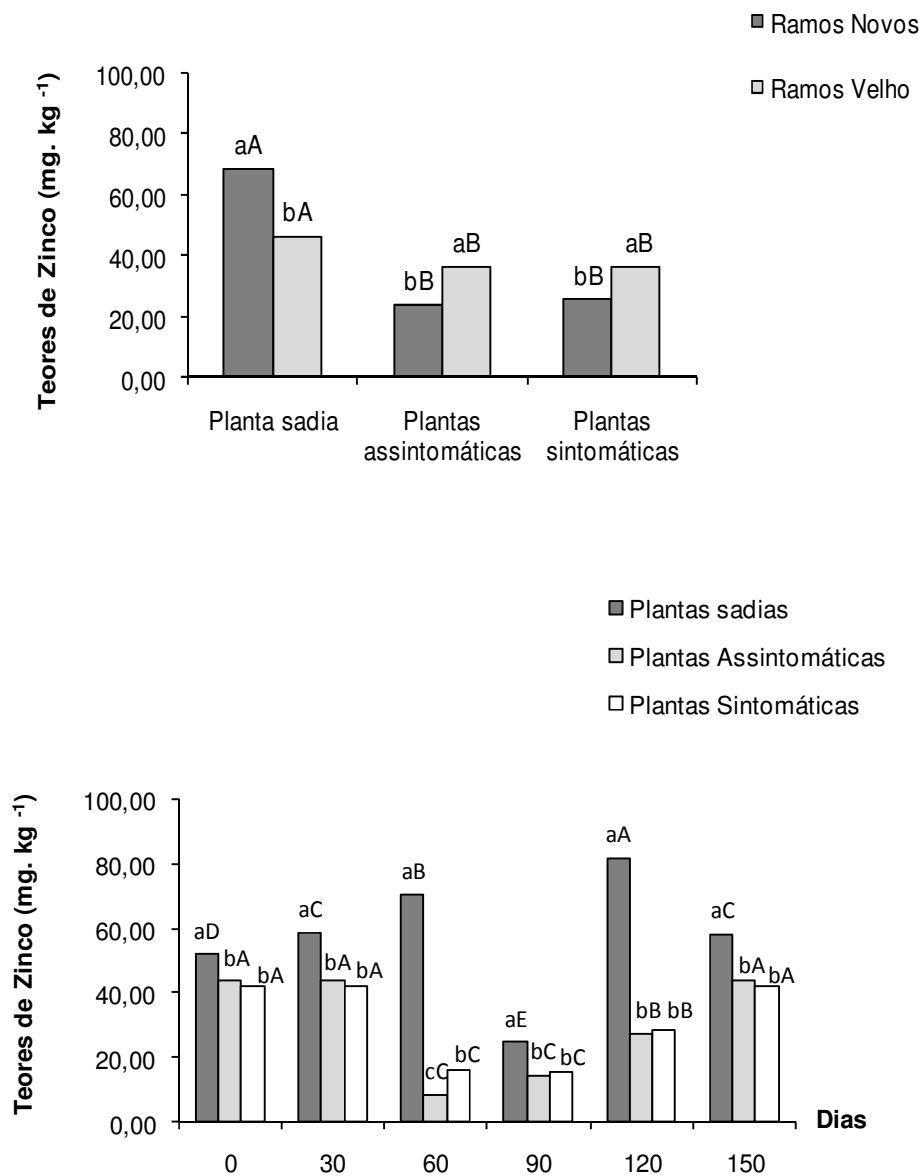
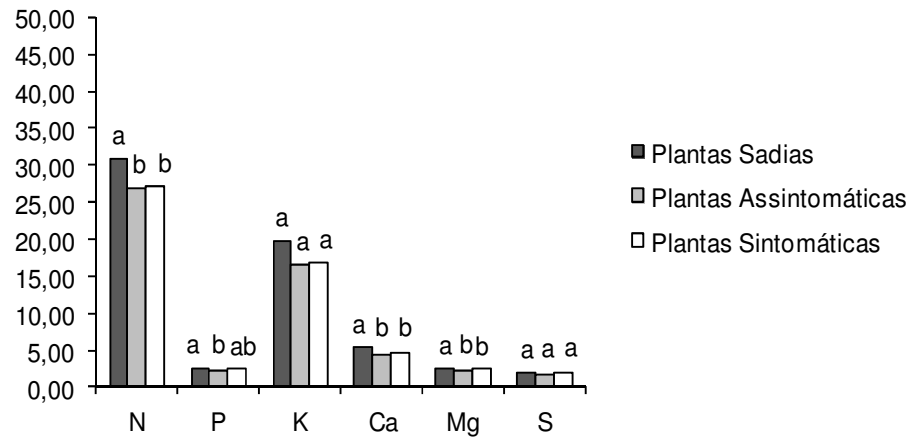


Figura 22. Teores de Zn de ramos velhos e novos de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), nas seis avaliações (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias após a 1ª avaliação). *Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

A



B

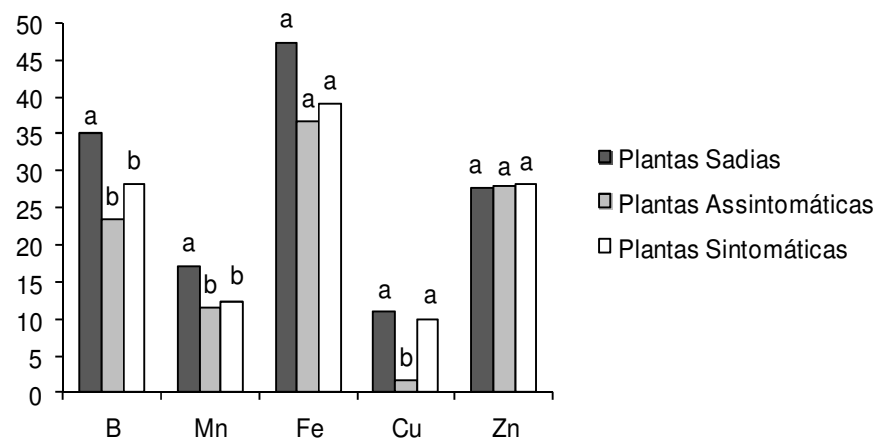


Figura 23. Teores de macro (A) e micronutrientes (B) de flores de laranjeiras ‘Valência’ sadias, doentes sem sintomas do HLB (assintomáticas) e doentes com sintomas do HLB (sintomáticas), no dia 24/11/20121.

*Médias seguidas da mesma letra, maiúscula (entre os tratamentos) e minúscula (dentro dos tratamentos) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).

Agarwala et al. (1981) testaram vários níveis de boro na cultura do milho e observaram que plantas cultivadas em baixos níveis do elemento desenvolveram pouca germinação do pólen, assim afetando a formação dos gametas funcionais, prejudicando sua viabilidade. Flores com baixos teores de boro apresentam modificações na quantidade e composição dos açúcares do néctar.

O boro é importante para os processos de divisão e alongamento celular. Acredita-se que ele influencie esses processos alterando o nível do hormônio vegetal, auxina, através da ativação de enzimas que oxidam esse hormônio. Se ocorrer diminuição dos teores de boro, talvez as enzimas sejam ativadas e a auxina possa ser degradada. A diminuição da auxina causa um desbalanço hormonal no pecíolo/pedúnculo, ocorrendo um aumento do hormônio etileno que ativa algumas enzimas (celulases e pectinases) que irão degradar a celulose e pectinas da parede celular, fragilizando a parede na zona de abscisão e assim, a folha/fruto e flores irão se destacar do ramo, provocando uma abscisão apenas por uma leve brisa.

Os nutrientes B e Zn estão relacionados com enzimas-chaves que alteram a biossíntese de auxinas, hormônio que previne o abortamento de flores. A deficiência de K conduz à diminuição de giberelinas. A giberelina Ga_3 , por sua vez, combinada com auxina, aumenta a capacidade de pegamento das flores em citros. O N é importante para a biossíntese de citocininas que é acompanhada pelo aumento da auxina. As variedades de citros são muito sensíveis à carência em macro e micronutrientes, o que, conseqüentemente, resultará em menores pegamento de flores e tamanho final de frutos.

V. CONCLUSÕES

- ✓ Os efeitos do HLB foram prejudiciais às relações hídricas e teores de nutrientes de laranjeiras 'Valência'.
- ✓ O processo fotossintético não foi alterado em plantas com HLB.
- ✓ A doença afetou o transporte, absorção e redistribuição de elementos minerais.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHARYA, B. R. & ASSMANN, S. M. Hormone interactions in stomatal function. **Plant Molecular Biology**, 2009. Disponível em: <<http://doi.org/10.1007/s11103-008-9427-0>>.
- ACHOR, D. S.; ETXEBERRIA, E.; WANG, N.; FOLIMONOVA, S. Y.; CHUNG, K. R.; ALBRIGO, L.G. Sequence of anatomical symptom observations in citrus affected with huanglongbing disease. **Plant Pathology Journal**, 2010.
- AGARWALA, S. C.; SHARMA, P. N.; CHATTERJEE, C.; SHARMA, C. P. Development and enzymatic changes during pollen development in boron deficient maize plants. **Journal of Plant Nutrition**, v. 3, n1/4, p. 329-336, 1981.
- ARAUJO, E. F. & ROQUE, N. Taxonomia dos citros. In: JUNIOR, D. M.; DE NEGRI, J. D.; PIO, R. M.; JUNIOR, J. P. **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. p. 127-143.
- AREVALO, H. A.; STANSLY, P. A.; ROUSE, R. E. Preliminary effects of insecticidal controle of Asian citrus psyllid and combinations of nutrients and systemic acquired resistance elicitors on incidence of greening disease in citrus. **Resistant Pest Management Newsletter**, East Lansing, v. 18, n. 2, p. 14-17, 2009.
- BASSANEZI, R. B.; LOPES, S. A.; BELASQUE JUNIOR, J.; SPÓSITO, M. B.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A. Epidemiologia do *huanglongbing* e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 11-23, 2010.
- BATAGLIA, O. C.; DECHEN, A. R.; SANTOS, W. R. Princípios da diagnose foliar. In: ALVAREZ, V. H.; FONTES, L. E. F.; FONTE, M. P. F. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfoclimáticos do Brasil e o desenvolvimento sustentável**. Viçosa: SBCS, UFV, DPS, 1996. p. 647-660.
- BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. Método de análise química de plantas. **Boletim Técnico**, Instituto Agronômico, Campinas, n. 78, 1983.

BELASQUE JUNIOR, J.; FILHO, A. B.; BASSANEZI, R. B.; BARBOSA, J. C.; FERNANDES, N. G.; YAMAMOTO, P. T.; LOPES, S. A.; MACHADO, M. A.; LEITE JUNIOR, R. P.; AYRES, A. J.; MASSARI, C. A. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 3, p.137 – 145, 2009.

BERGONCI, J. I.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, M. A.; SANTOS, A. O. Potencial da água na folha como um indicador de déficit hídrico em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 8, p. 1531–1540, 2000.

BONDADA, B. R. & SYVERTSEN, J. P. Concurrent changes in net CO₂ assimilation and chloroplast ultrastructure in nitrogen deficient citrus leaves. **Environmental and Experimental Botany**, v. 54, p. 41 – 48, 2005.

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

CASTRO, M. E. A.; BEZERRA, A. R.; LEITE, W. A.; FILHO, W. M.; NOGUEIRA, N. D. Situação e ações do estado de Minas Gerais frente ao *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 2, p. 163-168, 2010.

CASTRO, P. R. C. Aplicações da fisiologia vegetal no sistema de produção da cana-de-açúcar. In: Simpósio internacional de fisiologia da cana-de-açúcar, 2000, Piracicaba. Anais... Piracicaba: STAB, 2000, p.1-9.

COSTA, G. F. & MARENCO, R. A. Fotossíntese, condutância estomática e potencial hídrico foliar em árvores jovens de andiroba (*Carapa guianensis*). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 2, p. 229-234, 2007.

COLLETA-FILHO, H. D.; TAKITA, M. A.; TARGON, M. L. P. N.; CARLOS, E. F.; MACHADO, M. A. A bactéria *Candidatus Liberibacter* em plantas com Huanglongbing (ex-greening) no Estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 25, n. 2, p. 367-374, 2004.

COLLETA-FILHO, H. D. **Huanglongbing – HLB (ex-greening) no Brasil: Situação Atual.** Disponível em:

<http://www.amea.org.br/pesquisa_doc/helvecio%20della%20colleta-%20Trabalho%20apresentado%20no%2040%BA%20Congress.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2011.

DUAN, Y.; ZHOU, L.; HALL, D. G.; LI, W.; DODDAPANENI, H.; LIN, H.; LIU, L.; VAHLING, C. M.; GABRIEL, D. W.; WILLIAMS, K. P.; DICKERMAN, A.; SUN, Y.; GOTTWALD, T. Complete genome sequence of citrus Huanglongbing bacterium, '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' obtained through metagenomics. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v. 22, n. 8, p. 1011-1020, 2009.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas – princípios e perspectivas**. 2ª ed. Trad. Maria Edna Tenório Nunes. Editora Planta: Londrina. 2007. 403 p.

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

FERREIRA, C. A. G.; DAVIDE, A. C.; CARVALHO, L. R. Relações hídricas em mudas de *Eucalyptus citriodora* Hook., em tubetes, aclimatadas por tratamentos hídricos. **Cerne**, v. 5, n. 2, p. 95-104, 1999.

FRANCISCO, V. L. F. S.; CAMARGO, F. P.; CASER, D. V. **Evolução da Produção de Laranja 2009 – 2011 no Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=12052>>. Acesso em: 29 abr. 2011.

GAO, F.; JIFON, J.; YANG, X.; LIU, T. Zebra chip disease incidence on potato is influenced by timing of potato psyllid infestation, but not by the host plants on which they were reared. **Insect Science**, v. 16, p. 399-408, 2009.

GÓMEZ, H. D. Experiences on HLB (Huanglongbing) symptoms detection in Florida. Disponível em: <<http://www.concitver.com/huanglongbingYPsildoAsiatico/Memor%C3%ADa-9%20G%C3%B3mez.pdf>>. Acesso em: 20 mar. 2011.

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

GRAVENA, S.; DE NEGRI, J. D.; QUAGGIO, J. A.; GONZALEZ, M. A.; PINTO, W. B. S.; BASILE, G. B. Manejo de cigarrinhas e C.V.C. no pomar. In: DONADIO, L. C.; MOREIRA, C. S. (Coord.). **Clorose variegada dos citros**. Bebedouro: EECB, cap. 6, p. 93-112, 1997.

GRUPO PAULISTA DE ADUBAÇÃO E CALAGEM PARA CITROS. **Recomendações de adubação e calagem para citros no Estado de São Paulo**. Cordeirópolis: Laranja, 1994. 27p. (Edição Especial).

HOCQUELLET, A.; TOORAWA, P.; BOVÉ, J. M.; GARNIER, M. Detection and identification of the two *Candidatus Liberobacter* species associated with citrus huanglongbing by PCR amplification of ribosomal protein genes of the β operon. **Molecular and Cellular Probes**, v. 13, p. 373-379, 1999.

HUNG, T. H.; WU, M. L.; SU, H. J. Development of a rapid method for the diagnosis of citrus greening disease using the Polymerase Chain Reaction. **Journal of Phytopathology**, v. 147, p. 599-604. 1999.

KATO, T. Nitrogen metabolism and utilization in citrus. **Horticulture Reviews** v. 8, p.181-216, 1986.

KAUFMANN, M., Evaluation of the pressure chamber method for measurement of water stress in citrus. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 93, p. 186-198. 1968.

KIM, J.; SAGARAM, U. S.; BURNS, J. K.; LI, J.; WANG, N. Response of sweet orange (*Citrus sinensis*) to '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' infection: microscopy and microarray analyses. **Phytopathology**, 2009. Disponível em: <<http://doi:10.1094/PHYTO-99-1-0050>>.

LEGAZ, F.; SERNA, M. D.; PRIMO-MILO, E. Mobilization of the reserve N in citrus. **Plant and Soil**, v. 173, p. 205-210, 1995.

LIAO, H. & BURNS, J. K. Gene expression in *Citrus sinensis* fruit tissues harvested from huanglongbing-infected trees: comparison with girdled fruit. **Journal of Experimental Botany**, p. 1-13. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi:10.1093/jxb/ers070>>.

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

MACHADO, E. C.; MEDINA, C. L.; GOMES, M. M. A.; HABERMANN, G. Variação sazonal da fotossíntese, condutância estomática e potencial da água na folha de laranjeira 'Valência'. **Scientia Agricola**, v. 59, n. 1, p. 53-58, 2002.

MACHADO, E. C.; OLIVEIRA, R. F.; RIBEIRO, R. V.; MEDINA, C. L.; STUCHI, E. S.; MARIN, F. R.; SILVA, J. A. B.; SILVA, S. R. Fluxo de seiva e fotossíntese em laranjeira 'Natal' com clorose variegada dos citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 6, p. 911-918, 2006.

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

MAGALHÃES, A. F. de J. **Nutrição mineral e adubação de citros irrigados**. Cruz das Almas: EMBRAPA, p. 1-12, 2006.

MALAVOLTA, E.; PRATES, H. S.; VITTI, G. C. Changes in the mineral composition of citrus leaves affected by the abnormality variegated chlorosis or little yellow. In: Internacional Citrus Congress, 7. 1992, Acireale. **Proceedings...** Acireale: Internacional Society of Citriculture, 1994. v. 3, p. 828-829.

MALAVOLTA, E.; CABRAL, C. P.; PRATES, H. S.; OLIVEIRA, S. C. de; JUNIOR, J. L.; MALAVOLTA, M.; MORAES, M. F. Composição mineral de folhas de citros afetadas por declínio, amarelinho (CVC), morte súbita e huanglongbing (HLB). **Informações Agronômicas**, n. 110, 2005.

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

MALAVOLTA, E. & MALAVOLTA, M. L. Diagnose foliar – princípios e aplicações. In: BULL, L. T.; ROSOLEN, C. A. **Interpretação de análise química de solo e planta para fins de adubação**. Botucatu: UNESP, Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1989. p. 227-308.

MARTINEZ Y.; LLAUGER R.; BATISTA L.; LUIS M.; IGLESIA A.; COLLAZO C.; PEÑA I.; CASIN J. C.; CUETO J.; TABLADA L. M. First report of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' associated with Huanglongbing in Cuba. **Plant Pathology**, v. 58, p. 389, 2009.

MEDINA, C. L. **Fotossíntese, relações hídricas e alterações bioquímicas em laranja 'Pêra' com CVC e submetida à deficiência hídrica**. 2002. 164f. Dissertação (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 2002.

MEDINA, C. L.; MACHADO, E. C.; GOMES, M. M. A. Condutância estomática, transpiração e fotossíntese em laranja 'Valência' sob deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 1, p. 29-34, 1999.

NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. **O retrato da citricultura brasileira**. Markestrat, Centro de Pesquisa e Projetos em Marketing e Estratégias, 2011.

NILSON, S. E. & ASSMANN, S. M. The control of transpiration. Insights from Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 143, p. 19-27, 2007.

OREN, R.; SPERRY, J. S.; KATUL, G. G.; PATAKI, D. E.; EWERS, B. E.; PHILIPS, N.; SCHAFER, K. V. R. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. **Plant, Cell and Environment**, v. 22, n. 12, p. 1515-1526, 1999.

PIMENTEL, C. **A relação da planta com a água**. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ: Edur, 2004. 191 p.

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

RAIJ, B. van.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2001. 285p.

RODRIGUES, J. D. **Fisiologia da cana-de-açúcar**. Botucatu: Instituto de Biociências. 1995. 69p.

SCHROEDER, J. I.; ALLEN, G. J.; HUGOUVIEUX, V.; KWAK, J. M.; WANER, D. Guard cell signal transduction. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 52, p. 627–658, 2001.

SHELP, B. J. Physiology and biochemistry of boron in plants. In: GUPTA, U. C. **Boron and its role in crop production**. Boca Raton: CRC Press, p. 53-85, 1993.

SMITH, P. F. **Leaf analysis of citrus**. p. 208-228. In: Childers N.F. (ed.) Nutrition of fruit crops. New Jersey: Somerset Press. 1966.

SWINGLE, W. T. The botany of Citrus and its wild relatives of the orange subfamily (family Rutaceae, subf. Aurantioideae). In: WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L.D. (Ed.). **The citrus industry**. Berkeley and Los Angeles: University of California Press, 1943. v.1, p.129-474.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4^a ed. Trad. Eliane Romanato Santarém et al. Porto Alegre: Artmed, 2013. 848 p.

TAKUSHI, T.; TOYOZATO, T.; KAWANO, S.; TABA, S.; OOSHIRO, A.; NUMAZAWA, M. Starch method for simple, rapid diagnosis of citrus huanglongbing, using iodine to detect high accumulation of starch in citrus leaves. **Japanese Journal of Phytopathology**, Japan, v. 73, p. 3-8, 2007.

TANAKA, Y.; SANO, T.; TAMAOKI, M.; NAKAJIMA, N.; KONDO, N.; HASEZAWA, S. Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing

ethylene production in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, p. 2259–2266, 2006.

TARDIEU, F. & SIMONNEAU, T. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, p. 419-432, 1998.

TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; LEITE, A. P. R.; MARTINS, E. C.; AYRES, A. J. Identification, PCR detection and occurrence in São Paulo state, Brasil, of citrus huanglongbing-associated agents: *Candidatus* Liberibacter americanus, *Ca. L. asiaticus*, and the 16Sr group IX phytoplasma. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, 2009.

TEIXEIRA, D. C.; WULFF, N. A.; LOPES, S. A.; YAMAMOTO, P. T., MIRANDA, M. P. Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao *huanglongbing*. **Citrus Research & Technology**, v. 31, n. 2, p. 115-128, 2010.

VASCONCELOS, L. F. L.; RIBEIRO, R. V.; OLIVEIRA, R. F.; MACHADO, E. C. Variação de densidade de fluxo de seiva e do potencial hídrico foliar das faces leste e oeste da copa de laranjeira 'Valência'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, p. 35-46, 2010.