Efeitos da Radiação Eletromagnética LASER em Diaphorina citri

Effects of LASER Electromagnetic Radiation on Diaphorina citri

Milena Oliveira Kalile* Departamento de Entomologia – UFV Viçosa – Minas Gerais – 36570-900

Daniela Magalhães Departamento de Ciências Biológicas – UEFS Feira de Santana – Bahia – 44036-900

Mirco Ragni Departamento de Física – UEFS Feira de Santana – Bahia – 44036-900

Marilene Fancelli EMBRAPA Mandioca e Fruticultura Cruz das Almas – Bahia – 44380-000

Os níveis que a humanidade chegou no uso de pesticidas alarma os órgãos internacionais de controle da saúde coletiva, especialmente no Brasil. À toxicidade ambiental que aumenta, não corresponde um avanço no combate às pragas que afetam muitas das atividades produtivas. Por isso é necessário o uso de técnicas ambientalmente corretas e eficientes para garantir a subsistência da população mundial e o acesso a alimentos saudáveis. Neste trabalho é descrita a eficiência do uso do LASER na letalidade da *Diaphorina citri* pela exposição direta e indireta à radiação, e a perspectiva de limitar sua dispersão entre pomares cítricos ao acoplar o LASER a um sistema de reconhecimento e morte de insetos. Os resultados obtidos nos experimentos sugerem a utilização em outros tipos de pragas.

Palavras-chaves: Psilídeo; Eco-Compatibilidade; Huanglongbing; Citricultura; Manejo e Controle.

The level reached by humanity in the use of pesticides alarms the international health control organizations, especially in Brazil. The increasing environmental toxicity does not correspond to the expected advance in the fight against pests that affect many of the productive activities. For this reason, it is necessary to use efficient and ecological correct techniques to guarantee the subsistence of the world population and the access to healthy food. This paper describes the efficiency of the use of LASER in lethality of *Diaphorina citri* by direct and indirect radiation exposure and the perspective of limiting its dispersion among citrus orchards by the possibility of coupling of LASER to an insect recognition and death system. Moreover, the results obtained from experiments can be used for other types of pests.

Key-words: Psyllid; Eco-Compatibility; Huanglongbing; Citrus; Management and Control.

I. INTRODUÇÃO

Diaphorina citri (Hemiptera: Liviidae), o psilídeo asiático dos citros, é o vetor das

bactérias *Candidatus* Liberibacter spp. associadas do Hhuanglongbing (HLB) ou amarelão dos citros, a doença mais ameaçadora para citricultura mundial[1]. O inseto vetor pode se alimentar do floema de várias plantas da família Rutaceae, sendo a murta (*Murraya paniculata*)

^{*}Endereço Eletrônico: milenakalile@gmail.com

um dos seus hospedeiros preferenciais [2–4]. As plantas de murta são largamente utilizadas com função ornamental, o que facilita a dispersão do inseto e do HLB, além de também ser hospedeira das bactérias [5].

Até o momento, não há variedades de citros resistentes ao HLB e a doença é incurável Dentre os principais sintomas estão [6-8].o amarelecimento dos ramos, resultante do acúmulo de amido nas folhas, queda de frutos ainda imaturos, frutos não comercializáveis, pequenos e assimétricos, e com sementes abortadas [9–11]. As plantas sintomáticas devem ser erradicadas para que não sirvam de fonte de transmissão para exemplares sadios [12]. Porém, o período de latência da doença, que faz com que a planta permaneça assintomática, e a variação dos sintomas visuais, mesmo em plantas que foram infectadas simultaneamente, dificultam o manejo da doença [13, 14]. O controle do inseto vetor é o mecanismo mais usual para combate do HLB [10].

A principal medida de controle tem sido o uso intenso e inadequado de pesticidas [15], que além de terem sua eficiência limitada [16], causam a resistência da praga, podem afetar negativamente a população de inimigos naturais e polinizadores, poluir os pomares de citros, além de outros efeitos indesejados sobre a saúde humana e o meio ambiente [17, 18]. O Brasil é o maior exportador de laranja e do suco de laranja do mundo [19]. Para que assim se mantenha, é necessário encontrar métodos eficazes e alternativos ao uso de pesticidas.

Embora *D. citri* esteja presente no Brasil desde 1942 [20, 21], o HLB foi registrado no país em março de 2004, em pomares do município de Araraquara, no Estado de São Paulo, maior produtor do Brasil, e depois se alastrou para os estados de Minas Gerais e Paraná [22, 23]. Segundo o Fundecitrus, existem cerca de 37.1 milhões de plantas sintomáticas no cinturão citrícola, que abrange municípios de São Paulo e Triângulo Mineiro [24]. Além disso, a doença aumentou 4.8% em relação a 2018, atingindo 19.02% em 2019. Medidas urgentes devem ser tomadas para preservar a economia do país, no intuito de reduzir os prejuízos nas áreas afetadas e preveni-los em áreas em que o inseto já está presente mas ainda são consideradas livres da doença, como é o caso do estado da Bahia, terceiro maior produtor de laranja do país [25]. Neste contexto, uma abordagem holística pode trazer melhores resultados [26] e medidas que ajudem a prevenir a infecção de plantas sadias e limitem a dispersão do inseto são cruciais.

Além do monitoramento constante e do conhecimento das características biológicas e comportamentais do psilídeo, o uso da radiação LASER representa uma metodologia promissora no controle de pragas agrícolas e médicas [27]. Trabalhos anteriores demonstraram que a exposição à luz azul de baixa potência, durante várias horas ao longo de dias, pode incapacitar mosquitos e moscas-da-fruta [28]. Além disso, o vetor da malária, Anopheles stephensi, e o inseto D. citri foram mortos por radiação laser em vários comprimentos de onda, e este equipamento acoplado a um sistema óptico, que identifica e mata os insetos, pode ser utilizado para matá-los em voo [27]. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da exposição direta e indireta a radiação LASER de diferentes intensidade em exemplares de Diaphorina citri. Tanto a mortalidade quanto a dispersão do inseto em diferentes fases do ciclo evolutivo foi avaliada, bem como foram estudadas as implicações da radiação na superfície foliar da planta hospedeira M. paniculata.

II. MATERIAIS E MÉTODOS

A. Coleta do inseto praga

Por meio de um aspirador manual, adultos de *Diaphorina citri* foram coletados em murtas-de-cheiro (*Murraya paniculata*), presentes na EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, sede em Cruz das Almas (BA), e na Universidade Estadual de Feira de Santana. Por terem sido coletados no campo, os insetos representam um misto de condições fisiológicas, sexo e idade. Em testes preliminares não foi observada influência do sexo sobre a dispersão dos insetos, e nos demais experimentos não foram sexados. Exemplares expostos diretamente à radiação foram utilizados assim que coletados do campo. Os insetos expostos nas plantas (indiretamente) permaneceram em aclimatação por 24 horas em mudas de plantas hospedeiras limpas e com mesma idade, oriundas da casa de vegetação. Para evitar a dispersão dos insetos, as plantas foram colocadas em gaiolas confeccionadas em tela antiafídica de 45 cm de comprimento, 45 cm de largura e 55 cm de altura e com abertura frontal. Galhos de 6 cm de comprimento infestados com ninfas de D. *citri* de quarto e quinto ínstar foram coletados de plantas de murta do campus universitário da Universidade Estadual de Feira de Santana-BA. Todos os experimentos foram conduzidos em temperatura de 27 \pm 1 °C e umidade relativa de 70 \pm 10 %.

B. Equipamento LASER

A primeira série de testes de exposição à radiação eletromagnética foi realizada com LASER verde classe IIIb (532 nm). Na segunda série de experimentos foi utilizado o LASER azul da Wicked LASERs, modelo AR-TIC, com potência de 3.5 watts. Este modelo é configurável para emitir radiação em três níveis de potência (mínima, média e máxima). E também configurável para emissão de feixe pontual (energia concentrada) ou, por meio de uma lente de dispersão linear, de feixe com abertura de 120° (energia distribuída). A configuração do LASER azul em feixe linear foi utilizada por permitir uma melhor distribuição da radiação na planta, possibilitando assim uma exposição uniforme da D. citri. A potência do raio LASER é distribuída ao longo de uma linha de aproximadamente 50 cm de comprimento, reduzindo assim drasticamente a dose de radiação por unidade de superfície se comparada aquela do feixe pontual.



FIGURA 1: Suporte usado para exposição direta a radiação LASER das folhas e dos insetos.

C. Exposição direta à radiação LASER Verde e Azul em feixe pontual

O objetivo deste experimento foi acessar o tempo de morte de adultos de *D. citri* quando expostos diretamente aos LASERS Verde e Azul em feixe pontual (energia concentrada). Nos experimentos com LASER Verde, o equipamento foi posicionado num suporte universal à 10 cm de distância do alvo. Um total de 60 insetos foram expostos a radiação e o tempo necessário para provocar a morte foi medido. Adicionalmente, o tempo de morte das ninfas, colocadas a 10 cm de distância da fonte, e a inviabilização de ovos expostos ao LASER Verde também foram acessados.

Com base em testes preliminares, na exposição ao LASER Azul em feixe pontual, a distância foi aumentada para 30 cm. Um total de 95 insetos adultos foram colocados em um tubo de acrílico transparente posicionado verticalmente no suporte metálico. Todos os insetos foram expostos simultaneamente ao LASER na potência máxima (N3), com feixe pontual, a distância de 30 cm e o tempo de morte cronometrado. Para insetos expostos individualmente ao LASER azul, este tempo é inferior a 1 s e não foi cronometrado com precisão.

D. Exposição direta de adultos e ninfas à radiação LASER Azul com feixe linear

Nos experimentos usou-se a potência máxima (N3) em feixe aberto, nas distâncias de 30 cm, 20 cm, 10 cm e 5 cm dos alvos e regulada pelo encaixe do LASER à um suporte universal (FIGURA 1). A distância de 5 cm mostrou ser a melhor opção disponível para diferenciar a suscetibilidade entre ninfas e adultos, característica que foi obtida com experimentos sucessivos nos quais vinte ninfas e sete adultos serviram de teste. Os insetos foram individualmente posicionados em Placas de Petri e sucessivamente expostos, permitindo a comparação do tempo médio de morte dos dois estágios evolutivos.

E. Exposição Indireta à radiação LASER Azul com feixe linear

O objetivo deste experimento foi avaliar se insetos expostos à radiação LASER na potência média e máxima, enquanto permaneceram na planta hospedeira, dispersam e também se há efeito subletal da exposição. Esta última informação foi acessada com a observação da mortalidade dos insetos ao longo de 7 dias.



FIGURA 2: Câmara entomológica da Embrapa Mandioca e Fruticultura utilizada nos experimentos de dispersão. São visíveis as 3 portas de acesso e os respectivos visores.

Após período de aclimatação, em cada repetição, uma planta infestada pelo inseto praga foi inserida no centro de uma câmara retangular (dimensões 180 cm x 57 cm x 50 cm) com 3 aberturas frontais (FIGURA 2). Nas duas aberturas a 50 cm de cada lado da câmara, foi inserida uma planta de murta livre de insetos. As plantas possuíam altura e características foliares similares e apenas a planta central foi exposta à radiação, mantendo uma distância da fonte de 30 cm. A planta exposta foi rotacionada a cada 1 minuto de exposição para garantir que toda fosse irradiada.

O total de 458 Insetos de *D. citri* foram submetidos aos níveis de potência 2 e 3 (N2 e N3, respectivamente) com feixe aberto na horizontal (FIGURA 3) e 11 plantas foram expostas. Logo após a exposição foi verificada a mortalidade dos insetos enquanto a avaliação da dispersão ocorreu 1 h após a aplicação.

Nos casos verificados de dispersão, a distância foi medida com fita métrica com precisão de 1 mm (FIGURA 4). Insetos sobreviventes foram inseridos em tubos com 3 cm de diâmetro e 7 de altura, onde foram previamente colocados galhos de murta, provenientes de plantas não expostas, fixados em algodão umedecido. Após inserção dos insetos, os tubos foram selados com papel filme e acompanhados



FIGURA 3: Sessão de exposição a radiação LASER azul, abertura do feixe linear, da *Diaphorina citri* diretamente na planta hospedeira colocada no interno da câmara entomológica da EMBRAPA Mandioca e Fruticultura. O raio LASER é refletido na parede interna da câmara.



FIGURA 4: Medida com fita métrica milimetrada da distância de dispersão dos insetos, evidenciado na foto com um círculo vermelho, após uma hora da exposição à radiação LASER.

por sete dias. Posteriormente, três repetições com um total de 37 sobreviventes foram comparadas por sete dias com 10 ninfas em galhos não expostos. As plantas também foram observadas após a exposição.

F. Exposição indireta de ninfas à radiação LASER em feixe linear

As ninfas foram contadas e expostas à radiação LASER na potência máxima a 30 cm, 20 cm e 10 cm de distância da fonte, com testes de exposição de um e dois minutos. A mortalidade foi confirmada por meio da observação com lente de aumento. Após a exposição, apenas os galhos com ninfas sobreviventes tiveram a base enfiada em algodão umedecido e colocados em tubos para observação por oito dias. A influência da radiação na taxa de mortalidade foi avaliada 48 h após exposição ao LASER.

G. Exposição de folhas de *M. paniculata* à radiação LASER Azul

Para determinar o tempo médio de dano visível nas plantas, folhas da murta-de-cheiro foram expostas ao LASER Azul configurado para o feixe pontual e linear, nos três níveis de potência, colocado à 5 cm, 10 cm, 20 cm e 30 cm de distância. A variável avaliada foi o tempo médio necessário para provocar queimadura e/ou deixar marcas visíveis na superfície foliar.

H. Análises Estatísticas

Para analisar a dispersão e morte dos insetos até sete dias após exposição à radiação LASER em feixe Linear, na potência média e máxima, foi utilizado Modelo Linear Generalizado (GLM) com distribuição binomial no programa R. Lsmeans para contrastes.

A comparação entre o tempo de morte de ninfas e adultos expostos à radiação LASER Azul, na potência máxima, à 30 cm de distância, foi feita usando GLM, com distribuição do tipo quasipoisson. Para analisar a diferença na morte das ninfas após 48 h de exposição indireta ao LASER Azul, entre os diferentes tratamentos, foi utilizado GLM com distribuição binomial.

III. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A. Exposição direta à radiação LASER Verde e Azul em feixe pontual



FIGURA 5: Foto a, lado esquerdo: ovos de Psilídeo de conformação normal e cor amarelo em galho de murta. Foto b, lado direito: mesmo bio-sistema da foto a após um dia da exposição à radiação LASER.

O tempo médio de morte de insetos expostos individualmente ao laser verde em feixe pontual foi de 42 s para adultos e 15 s para ninfas. Os ovos se tornaram desidratados 24 h após exposição (FIGURA 5). Considerando a reflectância das folhas de murta, se deduz que o comprimento de onda do LASER Verde é o ideal para preservar a planta, sendo este refletido em quantidade superior aos demais comprimentos de onda da luz visível. Todavia. tendo como objetivo a morte ou a inviabilização do inseto, a luz de cor azul é mais indicada por ser fortemente absorvida pelo seu tegumento, significando uma morte mais rápida e maior agilidade de aplicação. Assim, ovos e as ninfas, por serem mais suscetíveis que os adultos, podem ser o foco de futuras experimentações. Quando os adultos foram expostos conjuntamente ao LASER pontual azul, o tempo médio de morte foi de 1.15 s por inseto (FIGURA 6). E esperado que para morte de inseto em vôo, com acoplamento a um sistema ótico de identificação, o LASER pontual azul na potência máxima mate D. citri em frações de segundo.

B. Exposição direta de adultos e ninfas à radiação LASER azul com feixe linear

Ninfas morreram mais rápido quando expostas individualmente à radiação do que os



FIGURA 6: Adultos após exposição simultânea direta à radiação LASER azul em feixe pontual nível 3. O tempo estimado para morte de cada inseto é de 1 segundo.

insetos adultos, corroborando os resultados de Hallman e Chapa [29].



FIGURA 7: Foto a, lado esquerdo: psilídeo em condição normal. Foto b, lado direito: psilídeo morto após exposição ao laser verde pontual.

Neste trabalho os autores afirmam que os insetos adultos de *D. citri* são mais tolerantes à radiação. A morte do inseto ocorre, principalmente, pela queimadura provocada no tegumento do inseto, como é possível observar pela comparação dos exoesqueletos de insetos irradiado e não irradiado (FIGURA 7). Pode-se notar que o LASER configurado para feixe linear, mesmo em máximo da potência, projeta no alvo uma intensidade por unidade de superfície consideravelmente menor daquela em configuração do feixe pontual. Assim sendo, o tempo de exposição necessário para causar danos significativos com LASER azul em feixe aberto é maior e os efeitos são comparáveis com àqueles da exposição ao LASER verde com feixe pontual.

Trabalhos anteriores com mosquitos e moscas das frutas obtiveram resultados de incapacitação com a exposição à luz azul de baixa potência durante várias horas ao longo de dias [28]. Mais recentemente, foi possível matar também o besouro que ataca folhas de morango Galerucella grisescens [30], que são animais mais robustos, de modo geral, que os dípteros. No caso deste último trabalho, a irradiação foi realizada com LEDs e aplicada aos estágios imaturos (ovos e pupa), por serem estes imóveis e menos resistentes que os adultos. Certamente, o uso de radiação LASER azul, por ser coerente, traria resultados ainda mais significativos do que os obtidos com o uso dos LEDs.

C. Exposição Indireta à radiação LASER azul com feixe linear

Os insetos examinados mostraram um maior propensão a dispersar quando expostos ao LASER na potência máxima (N3) do que quando expostos à potência média (N2).

Por outro lado, como esperado, a mortalidade 7 dias após à exposição foi significativamente maior entre os exemplares irradiados com potência média (FIGURAS 8 e 9). Outro aspecto relevante é que as plantas acompanhadas após à exposição não apresentaram alterações observáveis enquanto, do ponto de vista estatístico, os 37 exemplares mortos após exposição indireta ao LASER, configurado para emissão no nível máximo da potência, permitiram calcular uma mortalidade 35.7% maior que no grupo exposto (Grupo controle com 10 exemplares).



FIGURA 8: Tempo de morte de adultos e ninfas de *D. citri* quando expostos diretamente à radiação LASER azul à distância de 30 cm em feixe linear. O asterisco indica diferença significativa (F = 4.54, gl = 25, p = 0.0431).



FIGURA 9: Proporção de insetos dispersos e mortos até 7 dias após a exposição à radiação LASER Azul na potência média e máxima por 5 min enquanto estavam na planta hospedeira. Letras diferentes representam diferenças significativas entre tratamentos. A dispersão (Z = 5.4, p < 0.001) e morte (Z = 7.7, p < 0.001) dos insetos diferiram entre os dois tratamentos. As barras em cima das colunas representam o erro padrão.

A técnica apresentou potencial de redução populacional do inseto praga ao longo do tempo, visto que após exposições, mesmo em níveis subletais, o ciclo de vida do inseto foi interrompido. Embora o LASER na potência máxima tenha causado morte imediata de alguns insetos, a potência que causou maior mortalidade ao longo do tempo (Nível 2) foi aquela pela qual houve menor dispersão, o que é positivo, pois insetos que não dispersam podem ser expostos por um maior tempo, resultando em maior mortalidade. Além disso, potências medias e baixas são mais indicadas para controle de insetos praga, visando preservar a integridade dos produtos frescos e pensando na aplicação com o inseto na planta [31].

Uma possível explicação para a mortalidade após exposições subletais é que as avaliações dos efeitos do aumento da temperatura em Diaphorina citri demonstraram que o decréscimo da população de endossimbiontes pode estar relacionada ao aumento de sua mortalidade por afetar a relação hospedeiro-simbionte [32]. Assim, o aumento de temperatura induzido pela radiação pode ter sido suficiente para incapacitar os processos biológicos do inseto. Os indivíduos que sobreviveram, por sua vez, podem ter se protegido no aparato foliar da planta hospedeira, podendo-se desviar do feixe LASER. Ainda assim, a técnica apresentou potencial para reduzir a população do inseto ao longo do tempo e após uma única exposição. Desta forma, repetidas exposições, mesmo que em níveis subletais, podem interromper o ciclo vital do inseto, ajudando no seu controle.

D. Exposição indireta de ninfas à radiação LASER em feixe linear

Houve maior mortalidade após 48 h de exposição indireta ao LASER (N3) nas ninfas expostas a 10 cm de distância por um minuto. As demais distâncias e tempos de exposição não diferiram do controle (FIGURA 10). Muitas das ninfas que sobreviveram a exposição não conseguiram chegar a fase



FIGURA 10: Proporção de ninfas mortas após exposição indireta ao LASER azul na potência máxima a 3 distâncias, após 48 h. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($X^2 = 441$, gl = 366, p < 0.001).



FIGURA 11: Ninfa morta por causa de queimaduras da radiação.

adulta ou passar para o próximo ínstar. Embora no controle poucas ninfas também tenham conseguido chegar a fase adulta, a mortalidade neste período foi inferior. Comparando o controle com as ninfas expostas ao LASER em feixe linear por 1 min e a 10 cm de distância (FIGURA 11), por exemplo, na primeira avaliação a mortalidade no controle foi de 55%, enquanto dos insetos expostos foi de 91%. Na segunda avaliação, para o controle, o 33% das ninfas permaneceram vivas. Para os exemplares expostos, a maior porcentagem de sobrevivência encontrada foi de 6.5%. Foi possível também observar que ninfas do mesmo ínstar podem responder de modo diferente a exposição LASER. Enquanto algumas se movimentam e tentam sair do local atingido pela radiação, outras permanecem imóveis morrendo imediatamente e se desprendendo dos galhos. Importante ressaltar que isso aconteceu em tempos diferentes de caso a caso.

E. Exposição de folhas de *Murraya* paniculata à radiação LASER azul

A exposição por 5 min não mostrou ser eficiente para provocar danos nas folhas. Plantas submetidas à radiação não exibiram diferenças morfológicas em relação aos controles. Apenas exceto para distância a 5 cm do LASER em feixe linear foi capaz de queimar de lesionar a superfície da folha, o que pode ser explicado pela menor suscetibilidade das plantas em comparação aos insetos, devido a diferente capacidade de absorver a radiação e ao processo de resfriamento da planta. Além disso, o uso de radiação em raízes, frutos e folhas já é utilizado no mercado como método de controle de pragas [33].

Para possíveis aplicações futuras, deve-se considerar que diferentes insetos exibem diferentes tolerâncias à exposição a luz azul [30]. Além disso, foi observado que o mesmo inseto pode ter tolerâncias diferentes ao longo do seu ciclo de vida, provavelmente pela maior esclerotização da cutícula nos adultos que ajudam a proteger contra ameaças do ambiente [34]. Assim é esperado que ovos sejam ainda mais suscetíveis que adultos e ninfas, como foi possível observar após 24 h de exposição ao LASER verde de menor potência por 30 s.

Estes resultados indicam uma possível aplicação comercial do LASER com feixe pontual de potência aproximada de 3 watts para o controle de insetos danosos tais como *Anopheles stephensi* [27]. A tecnologia por trás do produto deve contemplar um sistema de identificação, rastreamento e abate ou incapacitação [27, 35]. Além disso, um sistema similar ao proposto de identificação de *D. citri* em voo acoplado a um LASER foi testado anteriormente e demonstrou acurácia a cerca de 8 m [35]. Vale ressaltar que o melhor comprimento de onda a ser usado neste tipo de equipamento depende principalmente das propriedades ópticas de absorção do inseto.

Ainda visando as possíveis aplicações tecnológicas, o grupo de pesquisa investigou diferentes formas, economicamente viáveis e eficazes para atração de *D. citri*, do tipo descrito em [36]. Neste trabalho se descreve como fontes luminosas podem ser inseridas num sistema do tipo atrai-mata. O LASER em feixe para aplicação indireta pode ser implementado especialmente em casas de vegetação e como medida preventiva de controle em mudas de plantas que serão transportadas, por exemplo.



FIGURA 12: Inseto que emergiu mal formado a partir de ninfa exposta à radiação LASER azul, abertura do feixe linear, por 2 minutos a uma distância da fonte de 30 cm. As asas mais externas se apresentam retorcidas e não conseguem recobrir as asas membranosas transparentes mais internas. Morreu sem deixar prole.

Um dos desafios na obtenção de dados sobre a utilização do LASER é garantir a uniformidade da exposição em todos os insetos testados. Esta dificuldade explica porque, para o mesmo grupo de ninfas, por exemplo, o tempo letal de exposição não foi uniforme. Também pode explicar porque na exposição a distância de 30 cm com feixe aberto por 2 min, o único indivíduo que chegou a fase adulta possuía asas deformadas e abdômen recurvado (FIGURA 12), como resultado da exposição subletal. Esse inseto, fêmea, morreu 6 dias após emergir e quando colocada com um macho não houve acasalamento no período de observação. Consequentemente, não deixou prole. Interessante destacar que a exposição subletal aumentaria a sua suscetibilidade. Neste caso, apenas as segundas asas membranosas e transparentes estariam protegendo o abdômen, parte do inseto que abriga diversos órgãos vitais. Mais estudos são necessários para descobrir quais os efeitos da exposição em níveis subletais sobre a capacidade reprodutiva e sobre as características genéticas dos indivíduos.

O uso de LASER pode limitar a necessidade de pesticidas e proteger os cultivos sem causar danos às plantas [37]. Um método alternativo que pode tornar mais viável o uso do LASER em exposições subletais, inclusive para outros insetos praga, é aquele que prevê o uso de plantas armadilhas expostas periodicamente à doses apropriadas de radiação. A definição destas em função do inseto praga e das condições ambientais de aplicação representam uma perspectiva de estudo.

IV. CONCLUSÕES

A radiação LASER pode ser utilizada para interromper o ciclo de vida de Diaphorina citri no estágio de ovo, ninfa e adulto. O LASER azul é considerado como o mais eficaz para o combate ao inseto praga, enquanto o LASER verde mata em 42 s, o azul pode matar em fração de segundo na exposição direta em feixe pontual. Porém para aplicação indireta o tempo de exposição deve ser limitado para não causar riscos à planta hospedeira. Como a fase de ovo é a mais suscetível, o controle nesta fase pode ser a melhor opção. Um equipamento do tipo atrai/mata ou o acoplamento do LASER a um sistema de identificação, rastreamento e morte de D. citri em voo pode ser efetivo para reduzir a população de D. citri e limitar sua dispersão. A exposição continuada em níveis subletais pode reduzir progressivamente a população de D. citri, principalmente quando se consideram ovos e ninfas como principais alvos.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro.

- J. M. Bové, Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. Journal of Plant Pathology 88, (1) 7 (2006).
- [2] D.E. Nava, M.L. Torres, M.D. Rodrigues, J.M. Bento, J.R Parra, *Biology of Diaphorina citri* (*Hem., Psyllidae*) on different hosts and at different temperatures. Journal of Applied Entomology 131, (9-10) 709 (2007).
- [3] D.G. Hall, M.L. Richardson, E.D. Ammar, S.E. Halbert, Asian citrus psyllid, Diaphorina citri, vector of citrus huanglongbing disease. Entomologia Experimentalis et Applicata 146, (2) 207 (2013).
- [4] M.C. Gasparoto, B. Hau, R.B. Bassanezi, J.C. Rodrigues, L. Amorim, *Spatiotemporal dy-*

namics of citrus huanglongbing spread: a case study. Plant Pathology **67**, (7) 1621 (2018).

- [5] V.D. Damsteegt, E.N. Postnikova, A.L. Stone, M. Kuhlmann, C. Wilson, A. Sechler, N.W. Schaad, R.H. Brlansky, W.L. Schneider, Murraya paniculata and related species as potential hosts and inoculum reservoirs of 'Candidatus Liberibacter asiaticus', causal agent of huanglongbing.. Plant Disease 94, (5) 528 (2010).
- [6] R.E. McClean, Greening or blotchy-mottle disease of citrus. Phytophylactica 2, (3) 177 (1970).
- [7] X. Zou, X. Bai, Q. Wen, Z. Xie, L. Wu, A. Peng, Y. He, L.n Xu, S. Chen, Comparative Analysis of Tolerant and Susceptible Citrus

Reveals the Role of Methyl Salicylate Signaling W.S. C

in the Response to Huanglongbing. Journal of Plant Growth Regulation, 1 (2019).

- [8] T. Yamada, M. Hamada, P. Floreancig, A. Nakabachi, Diaphorin, a polyketide synthesized by an intracellular symbiont of the Asian citrus psyllid, is potentially harmful for biological control agents. PLoS One 14, (5) e0216319 (2019).
- [9] A. Batool, Y. Iftikhar, S.M. Mughal, M.M. Khan, M.J. Jaskani, M. Abbas, I.A. Khan, *Citrus greening disease-a major cause of citrus decline in the world-a review.* Hort. Sci.(Prague) **34**, (4) 159 (2007).
- [10] H.D. Gómez, Experiences on HLB (Huanglongbing) symptoms detection in Florida. Memorias del Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos. Hermosillo, (2008).
- [11] E. Etxeberria, P. Gonzalez, D. Achor, G. Albrigo, Anatomical distribution of abnormally high levels of starch in HLB-affected Valencia orange trees. Physiological and Molecular Plant Pathology 74, (1) 76 (2009).
- [12] E.E. Grafton-Cardwell, L.L. Stelinski, P.A. Stansly, Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. Annual Rev. Entomology 58, 413 (2013).
- [13] J.A. Lee, S.E. Halbert, W.O. Dawson, C.J. Robertson, J.E. Keesling, B.H. Singer, Asymptomatic spread of huanglongbing and implications for disease control. Proc. National Acad. Sci. 112, (24) 7605 (2015).
- [14] M.L. Keremane, C. Ramadugu, E. Rodriguez, R. Kubota, S. Shibata, D.G. Hall, M.L. Roose, D. Jenkins, R.F. Lee, A rapid field detection system for citrus huanglongbing associated 'Candidatus Liberibacter asiaticus' from the psyllid vector, Diaphorina citri Kuwayama and its implications in disease management. Crop Protection 68, 41 (2015).
- [15] J.A. Silva, D.G. Hall, T.R. Gottwald, M.S. Andrade, W. Maldonado Jr., R.T. Alessandro, S.L. Lapointe, E.C. Andrade, M.A. Machado, *Repellency of selected Psidium guajava culti*vars to the Asian citrus psyllid, Diaphorina citri. Crop Protection 84, 14 (2016).
- [16] J. Li, L. Li, Z. Pang, V.G. Kolbasov, R. Ehsani, E.W. Carter, N. Wang, Developing Citrus Huanglongbing (HLB) Management Strategies Based on the Severity of Symptoms in HLB-Endemic Citrus-Producing Regions. Phytopathology 109, (4) 582 (2019).
- [17] R.S. Mann, R.L. Rouseff, J.M. Smoot JM,

W.S. Castle, L.L. Stelinski, Sulfur volatiles from Allium spp. affect Asian citrus psyllid, Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), response to citrus volatiles. Bulletin of Entomological Research **101**, (1) 89 (2011).

- [18] X. Chen, L. Stelinski Resistance management for Asian citrus psyllid, Diaphorina citri Kuwayama, in Florida. Insects 8, (3) 103 (2017).
- [19] M.J. Alam, M.I. Gomez, M. Patino, Price Transmission within the Citrus Sector in Brazil: Evidence of Market Inefficiency. https://ageconsearch.umn.edu/record/-276976/. Acesso em: 08/10/2019.
- [20] A.C. Lima, Insetos do Brasil, Homopteros. Escola Nacional de Agronomia – SD4 3, 327 (1942).
- [21] A.C. Lima, Insectos do Brazil, Homopteros 3. Rio de Janeiro: Imprenso National (1942).
- [22] D.C. Teixeira, J.L. Danet, S. Eveillard, E.C. Martins, W.C. Jesus Junior, P.T. Yamamoto, A.S. Lopes, R.B. Bassanezi, A.J. Ayres, C. Saillard, J.M. Bové, *Citrus huanglongbing in* São Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus Liberibacter' species associated with the disease. Molecular and Cellular Probes 19, 173 (2005).
- [23] Manual de Procedimentos-Huanglongbing: levantamentos fitossanitários, ações de prevenção e de controle. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2009).
- [24] Fundo de Defesa da Citricultura Fundecitrus (2019). https://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/noticias /integra/equipes-decontrole-externo-do-greening- substituem-259mil-plantas-de-citros-e-murta-e-percorrem-856-mil-hectares-de-citros-de-agosto-de-2018a-maio-de-2019/835. Acesso em: 28/09/2019.
- [25] IBGE. https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/ periodicos/2415/epag_2019_jan.pdf. Acesso em: 28/09/2019.
- [26] L.L. Stelinski, Ecological aspects of the vector-borne bacterial disease, Citrus Greening (Huanglongbing): Dispersal and host use by Asian Citrus Psyllid, Diaphorina Citri Kuwayama. Insects 10, (7) 208 (2019).
- [27] M.D. Keller, D.J. Leahy, B.J. Norton, E.R. Mullen, M. Marvit, A. Makagon, Laser induced mortality of Anopheles stephensi mosquitoes. Scientific Reports 6, 20936 (2016).
- [28] M. Hori, K. Shibuya, M. Sato, Y. Saito, Lethal effects of short-wavelength visible light on insects. Sci. Rep. 4, srep07383 (2014).

- [29] G.J. Hallman, C.L. Deanna, *Phytosanitary Irradiation of Diaphorina citri (Hemiptera: Liviidae)*. Florida Entomologist **99.6**, 150 (2016).
- [30] M. Hori M, A. Suzuki, Lethal effect of blue light on strawberry leaf beetle, Galerucella grisescens (Coleoptera: Chrysomelidae). Scientific Reports 7, (1) 2694 (2017).
- [31] I. Khan, Phytosanitary irradiation of Diaphorina citri (Hemiptera: Liviidae) on Citrus aurantium (Sapindales: Rutaceae). Florida Entomologist 99.6, 153 (2016).
- [32] M. Hussain, K.S. Akutse, K. Ravindran, Y. Lin, B.S. Bamisile, M. Qasim, C.K. Dash, L. Wang, Effects of different temperature regimes on survival of Diaphorina citri and its endosymbiotic bacterial communities. Environmental Microbiology 19, (9) 3439 (2017).
- [33] G.J. Hallman, *Phytosanitary applications of irradiation*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **10.2**, 143 (2011).

- [34] X.X. Wang, Z.J. Feng, Z.S. Chen, Z.F. Zhang, Y. Zhang, T.X. Liu, Use of tyrosine hydroxylase RNAi to study Megoura viciae (Hemiptera: Aphididae) sequestration of its host?s l-DOPA for body melanism. J. Insect Physiology 114, 136 (2019).
- [35] E.R. Mullen, P. Rutschman, N. Pegram, J.M. Patt, J.J. Adamczyk, *Laser system for identification, tracking, and control of flying insects.* Optics Express 24, (11) 11828 (2016).
- [36] T.M. Paris, S.D. Croxton, P.A. Stansly, S.A. Allan, *Temporal response and attraction of Diaphorina citri to visual stimuli*. Entomologia Experimentalis et Applicata 155, (2) 137 (2015).
- [37] N. Hatton, D. Flippo, A. Sharda. Pest Mitigation with Laser Identification System. International Journal of Engineering Inventions 6, (9) 1 (2017).