

- **HLB: Aspectos generales de la enfermedad**
- ***Diaphorina citri*: Avances de la investigación en Uruguay.**

**Programa Citricultura  
INIA Salto Grande**

**29 de Abril de 2009  
Serie Actividades de  
Difusión N° 569**

# Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

## **Integración de la Junta Directiva**

**Ing. Agr., Dr. Dan Piestun** - Presidente

**Ing. Agr., Dr. Mario García** - Vicepresidente



**Ing. Agr. José Bonica**

**Dr. Alvaro Bentancur**



**Ing. Agr., MSc. Rodolfo M. Irigoyen**

**Ing. Agr. Mario Costa**



# Indice

Pág.

## HUANGLONGBING (EX GREENING).

ASPECTOS BÁSICOS. BIOLOGIA, DIAGNOSTICO, PREVENCIÓN.....	1
--	---

## DIAPHORINA CITRI

### 1) PROBLEMÁTICA: LA PLAGA Y SU CONTROL EN EL MUNDO

EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS <i>Diaphorina citri</i> , VECTOR DEL HLB.....	6
---	---

### 2) PRINCIPALES AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN EN URUGUAY

2.1 AVANCES EN LOS RESULTADOS SOBRE LA DURACIÓN DEL CICLO DE VIDA DEL “PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS”, <i>Diaphorina citri</i> (HEMIPTERA: PSYLLIDAE).....	17
2.2 PRESENCIA DE <i>D. citri</i> EN LAS DISTINTAS ZONAS CITRÍCOLAS.....	20
2.3 FLUCTUACIÓN DE LAS POBLACIONES Y PARASITISMO.....	23
2.4 EVALUACIÓN DE DISTINTAS TÉCNICAS DE MUESTREO PARA ADULTOS Y ESTADOS INMADUROS DE <i>Diaphorina citri</i> .....	29
2.5 DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE ESTADOS INMADUROS Y ADULTOS DE <i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Psyllidae).....	33

**HUANGLONGBING (EX GREENING)**  
**ASPECTOS BASICOS**  
**BIOLOGIA, DIAGNOSTICO, PREVENCION**

Este trabajo fue elaborado por:  
Ing. Agr. (MSc) Elena Pérez Faggiani  
Programa Nacional Producción Citrícola  
Fitopatología  
INIA Salto Grande

Huanglongbing (HLB) es una de las enfermedades de los cítricos más importante en todas las regiones productoras donde se ha reportado la enfermedad.

En Uruguay hasta el momento no se han observado síntomas sospechosos de HLB. Sin embargo, la presencia de la misma en un país vecino y la dificultad que existe en la detección del agente causal en plantas asintomáticas nos preocupa y nos hace pensar que la mejor manera de evitar su ingreso es informándonos sobre sus riesgos, perjuicios y aspectos relevantes de la enfermedad.

Con este material INIA pretende aportar algunas herramientas básicas como apoyo al Sector Citrícola para el conocimiento de la enfermedad.

## 1 Introducción

Huanglongbing (HLB), enfermedad de los brotes amarillos, greening o dragón amarillo es una enfermedad que se originó en el continente asiático y actualmente está distribuida en zonas productoras de cítricos de Asia, África y América, precisamente en áreas de Estados Unidos, Brasil y Cuba. No ha sido reportada en Australia, Argentina, México y Uruguay.

Es una de las enfermedades más peligrosas y temidas por las pérdidas productivas y económicas que ocasiona. Las plantas jóvenes afectadas **no entran nunca en producción** y las plantas adultas **dejarán de producir** pocos años después de que se manifiesta la enfermedad. En las plantas de vivero infectadas, los síntomas pueden ser esporádicos e inconsistentes aunque un porcentaje alto de plantas se encuentren contaminadas.

## 2 Agente causal y su distribución en el mundo.

El agente causal es una bacteria que habita en los vasos del floema. Solo recientemente ha sido posible cultivarla en medios artificiales en asociación con otra bacteria, lo que causa dificultades para realizar estudios biológicos y agronómicos.

Basados en el estudio del perfil de DNA ribosomal (rDNA) se ha propuesto incluirla como *Candidatus* del género *Liberibacter*.

Se han encontrado tres especies diferentes de la bacteria en las distintas zonas afectadas por la enfermedad. En África se reportó **Can. Liberibacter africanus**, en Asia y Estados Unidos **Can. Liberibacter asiaticus** y en Brasil **Can. Liberibacter asiaticus** y **Can. Liberibacter americanus**. La forma de HLB que afecta a los países del continente africano, es sensible al calor y los síntomas no se desarrollan en climas donde las temperaturas superan los 30 °C por varias horas en el día. En condiciones controladas, *Can. Liberibacter africanus* produce síntomas severos a temperaturas de 22 a 24 °C que desaparecen por encima de 25° a 30 °C. En cambio, la forma asiática expresa síntomas severos a ambas temperaturas y por encima de 30 °C. En el caso de **Can. Liberibacter americanus** los trabajos de investigación aun no son concluyentes.

## 3. Hospederos

Todos los cítricos pueden ser infectados por la bacteria. Los síntomas más severos de HLB se han observado en naranjas, mandarinas y tangelos seguidos por limones, pomelos, limón rugoso y kumquats. En limas y pummelos la expresión de la enfermedad es muy leve. Se han observado síntomas en *Microcitrus australasica*, *Swinglea glutinosa*, *Atalantia missionis*, *Clausena indica*, *Limonia acidissima*, *Balsamocitrus dawei*, *Aeglopsis chevalieria*, *Severinia buxifolia* y *Murraya paniculata*. Las únicas especies no rutáceas que fueron infectadas en condiciones de laboratorio fueron *Catharantus roseus* y *Nicotiana xanthii*.

#### 4. Diseminación

A **larga distancia** el patógeno **se disemina** por la actividad del hombre, **al movilizar material vegetal contaminado** (plantas, yemas, hojas, etc). Puede propagarse también mediante injerto de material contaminado y algunos trabajos recientes están estudiando la viabilidad de la propagación por semillas.

**En la naturaleza**, la **transmisión** se produce **mediante insectos vectores** de forma persistente. En África y otras zonas el vector de *Can. Liberibacter africanus* es *Trioza erythrae* y en Asia y Brasil el vector de *Can. Liberibacter asiaticus* y *Can. Liberibacter americanus* es *Diaphorina citri*. Estos insectos al alimentarse de plantas infectadas, adquieren la bacteria que tiene la capacidad de multiplicarse en el cuerpo del vector. Luego de un período de latencia de 8 a 12 días el insecto es virulento y permanecerá así durante toda su vida. El vector *Diaphorina citri* se encuentra presente en Uruguay, aumentando el riesgo epidémico si se introdujera material vegetal infectado.

No hay evidencias de que la bacteria pueda ser transmitida en forma mecánica (por ejemplo, poda). Experimentalmente fue transmitida por cuscuta.

#### 5. Colonización

Desde que el patógeno ingresa a la planta hasta que se manifiestan los primeros síntomas pueden pasar muchos meses. La bacteria ingresa al floema de las plantas sanas mediante la alimentación de insectos vectores contaminados. Hay un periodo de incubación prolongado hasta que se expresan los síntomas típicos de clorosis en las hojas de una o varias ramas. No se conocen totalmente los factores que hacen variar el período de incubación.

#### 6. Síntomas

Diferentes variedades pueden expresar diferente sintomatología. Sin embargo, la descripción de los síntomas de la enfermedad es similar en la bibliografía consultada de África, Asia y América del Sur.

**Síntomas iniciales.** Al principio, en los brotes y ramas afectadas se observan algunas hojas con un moteado similar al producido por una deficiencia nutricional. Posteriormente, todas las hojas del brote o rama afectada se vuelven amarillas. Éste síntoma es lo que le da el nombre de "brote amarillo" a la enfermedad, pues notoriamente se distingue/n la rama/s afectada/s del resto de las ramas del árbol que presentan una coloración verde normal. Es típico de la enfermedad que primero se manifieste en una rama o sector del árbol y posteriormente en la totalidad.

**Síntomas avanzados.** Como la bacteria se moviliza en el interior de la planta, al poco tiempo de la aparición de los primeros síntomas, se observa un amarillamiento generalizado ramas muertas y un aspecto de debilitamiento general que progresiva y rápidamente lleva a la muerte del árbol. Desde la aparición de los primeros síntomas hasta el estado improductivo de la planta pueden pasar solamente 2 a 3 años. En estos árboles las hojas

son más pequeñas que las normales y frecuentemente muestran síntomas de deficiencia mineral (Zinc o Manganeso).

El síntoma característico en hojas de esta enfermedad es conocido en Brasil con el nombre de "mosqueado" (moteado). Consiste en una clorosis similar a las que producen los virus (variegado). La forma más fácil de diferenciar el síntoma de HLB de alteraciones similares producidas por otras causas, es por la falta de simetría en el color entre ambos márgenes de la hoja. Contribuye en el diagnóstico la observación de las nervaduras que pueden ser prominentes y amarillas. Los síntomas causados por deficiencia de zinc, magnesio, manganeso o por causas bióticas como la gomosis producida por hongos podrían ser confundidos con HLB. Generalmente el contraste entre verde y amarillo en las hojas afectadas por huanglongbing no es tan fuerte como en otras afecciones y no existe simetría como en las deficiencias nutricionales.

Los frutos de árboles enfermos pueden ser asimétricos, pequeños y permanecer verdes durante todo el desarrollo. En otros casos, pueden madurar y se observa una inversión en la transformación de la coloración, permaneciendo verde la zona estilar y evolucionando a los colores anaranjados la zona peduncular. Al presionar con la yema del dedo los frutos verdes afectados, en la zona que circunda el área de presión, se observa una coloración plateada sobre la piel del fruto. En la zona de inserción con el pedúnculo se observa un anillo marrón anaranjado. Si se realiza un corte longitudinal se observa un hilo anaranjado que parte de la zona de inserción del pedúnculo, pocas semillas debido a que la mayoría abortaron y a veces el albedo es más grueso que en un fruto normal

Imágenes de los síntomas se pueden consultar en [www.inia.org.uy](http://www.inia.org.uy)

## 7. Diagnóstico

**Diagnóstico en campo.** La asimetría de los frutos es una de las características utilizadas en el diagnóstico a nivel de campo que ayuda a diferenciar la enfermedad HLB de otras sintomatologías producidas por agentes bióticos y abióticos. Para diferenciar el moteado típico de HLB de otras clorosis FUNDECITRUS recomienda utilizar la siguiente técnica llamada "**Método de la lapicera**": *tome una lapicera y delimite un área en la hoja que abarque dos lados opuestos del limbo, separados por la nervadura central. La coloración asimétrica del limbo foliar, es típico de HLB.*

Si observa, una o **pocas ramas con todas las hojas amarillas** que se destacan del resto de las ramas del árbol y **frutos pequeños, desformados con semillas abortadas y sabor amargo** u observa **hojas con moteado típico**: coloración asimétrica del limbo foliar, nervadura salientes y mas clara en la base, es probable que este frente a plantas con HLB. **En una situación similar es obligatorio notificar a la Dirección General de Servicios Agrícolas (DGSA) para su verificación por ser una enfermedad cuarentenaria en el país..**

**Diagnóstico en laboratorio.** El test biológico de plantas indicadoras fue la primera herramienta utilizada para el diagnóstico de HLB. Manteniendo a las plantas en

invernáculo con temperaturas apropiadas, los síntomas se observaron después de 3 o 4 meses de haber injertado en plantas sanas brotes de plantas enfermas.

Otra técnica empleada fue la microscopia de fluorescencia. En el floema de las plantas infectadas se observa una fluorescencia amarilla que no se observa en las plantas sanas, con deficiencias nutricionales o infectadas con virus. En el caso de la serología, se han desarrollado sueros monoclonales que reconocen algunos aislamientos, pero no otros.

Existen algunas técnicas bioquímicas que auxilian en el diagnóstico de HLB. Sin embargo, en muchos casos las reacciones diferentes entre plantas sanas e infectadas por la bacteria que causa HLB no son específicas. Quizá la técnica más económica y rápida para realizar un diagnóstico presuntivo a nivel de campo, sea el test de yodo implementado recientemente en Vietnam. Es un test colorimétrico que se basa en la acumulación diferencial de almidón que hay en las hojas enfermas de HLB con respecto a las hojas sanas. Una forma de desarrollar el método es colocando una gota del macerado de una muestra sospechosa sobre papel de filtro. Inmediatamente se coloca encima de la misma, una gota de una solución de yodo. Luego de unos minutos, se observa si hubo un cambio de color sobre el papel de filtro. La tinción es positiva en las muestras de plantas enfermas y negativa en las muestras de plantas sanas. Como pueden obtenerse falsos positivos y negativos, la información obtenida sirve como complemento auxiliar en el diagnóstico de la enfermedad. El método definitivo de diagnosis debe ser realizado por PCR que es el procedimiento más efectivo, rápido y correcto para la detección precisa de la enfermedad.

## **8. Manejo de la enfermedad**

No existen medidas terapéuticas efectivas. Donde la enfermedad existe, el manejo adoptado tiene como propósito evitar la diseminación de la enfermedad. El control integrado que consiste en el uso de material sano, la erradicación de las plantas afectadas, el control químico y biológico del vector y una estricta regulación de la producción y movimiento del material vegetal que incluye a todos los hospederos, son las herramientas disponibles hasta la fecha para su manejo.

***En nuestro país la medida de manejo más acertada para su prevención es evitar el ingreso de la enfermedad. No se debe introducir material de propagación de cítricos o especies ornamentales huésped del patógeno en forma ilegal. Recordar que las plantas pueden ser un reservorio de la bacteria y no presentar síntomas de la enfermedad en forma inmediata.***

## **9. Agradecimientos**

Dr. José Belasque Jn. (FUNDECITRUS) y Dr. Eduardo Fermín Carlos (Centro APTA Citros "Sylvio Moreira", IAC), por el entrenamiento recibido en el diagnóstico de la enfermedad en el campo. Ing. Agr. Carmen Goñi (INIA\_SG), Ing. Agr. Héctor Mara (INIA\_SG) y Dr. Carlos F. Rivas (INIA\_SG) por las correcciones y sugerencias en la elaboración de esta publicación.



# 1) PROBLEMÁTICA: LA PLAGA Y SU CONTROL EN EL MUNDO

## EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS *Diaphorina citri*, VECTOR DEL HLB

Gabriela Asplanato<sup>1</sup>, José Buenahora<sup>2</sup>

### Introducción

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) es considerada una plaga importante de los cítricos al ser transmisor de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. responsable de la enfermedad denominada 'huanglongbing' (HLB) la más seria y destructiva de los cítricos (Bové, 2006). Se han descrito tres tipos de la enfermedad: asiática, africana y más recientemente la americana con las denominaciones de la bacteria como *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus* (Teixeira et al., 2005; Bové, 2006). Los dos insectos vectores conocidos del HLB son *D. citri* y *Trioza erytrae* que ocupan diferentes nichos medioambientales. *T. erytrae* es el vector de *Ca. L. africanus* y se encontró en Brasil que *D. citri* es el vector de *Ca. L. asiaticus* y *Ca. L. americanus*.

En Uruguay, a pesar de que *D. citri* se conoce desde hace muchos años y se observa frecuentemente en predios citrícolas de la zona norte, no se habían realizado estudios biológicos y ecológicos que aporten información sobre su comportamiento en nuestras condiciones. Esto se debe en parte, a que al no encontrarse presente el HLB en el país, el psílido era considerado una plaga secundaria.

En el continente americano la enfermedad se detectó por primera vez en el estado de San Pablo, Brasil en el año 2004 (Teixeira et al., 2005), aunque el vector ya estaba presente en la primera mitad del siglo XX (Costa Lima, 1942). Actualmente se halla también en los estados de Minas Gerais y Paraná.

La detección de la enfermedad en la región y la presencia del insecto en nuestro país expone a la citricultura a una situación de alto riesgo. En el caso de un eventual ingreso de la bacteria, surge como una posibilidad real, el uso indiscriminado de insecticidas para el control del vector con sus consecuencias económicas y ambientales desfavorables en el cultivo. En este marco consideramos primordial realizar un proyecto de investigación que apunte a obtener los conocimientos básicos, imprescindibles para el desarrollo de formas de control adecuadas, efectivas pero compatibles con el manejo de plagas que se realiza en el cultivo, como forma de anticiparse a la problemática de la plaga y la enfermedad y evitar posteriores desequilibrios en el ecosistema citrícola.

### Distribución

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), es una especie originaria de la región Indo-Malasia (Waterhouse, 1998) fue descrita en Taiwan en 1907. El insecto se dispersó lentamente por el sur y este de Asia, Arabia Saudita, algunas islas del océano Índico, Reunion y Mauritius. Está presente en China, India, Taiwán, Filipinas, Malasia, Indonesia, Pakistán, Tailandia, Nepal, Hong Kong, Afganistán, Reunion y Mauricio (Halbert y Manjunath, 2004; Hall, 2008).

En el continente americano *D. citri* fue citada por primera vez en Brasil en la década de 1940, (Costa Lima, 1942). Actualmente presenta una amplia distribución en América del sur, está reportada en Brasil, Argentina, Uruguay, Bolivia, Paraguay y Venezuela. En Argentina se

<sup>1</sup> Dr. Ing. Agr. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía

<sup>2</sup> Ing. Agr. Programa Nacional de Producción Citrícola. INIA- Salto Grande

halla en las zonas de Concordia, Corrientes, Jujuy y Salta pero no se ha encontrado hasta el momento en la región citrícola de Tucumán (Cáceres et al., 2008; Garay, 2008; Gastaminza et al., 2008; Tapia, 2008; Vaccaro y Bouvet, 2008; Vargas, 2008) El insecto se encuentra también en América Central, el Caribe, México y en el sur de Estados Unidos, en los estados de Florida, Texas, Louisiana, Alabama, Georgia, Mississippi y California en Estados Unidos.

En Uruguay fue detectada en el año 1991 en varias quintas del departamento de Salto (Bernal, 1991).

## Hospederos

*D. citri* presenta un rango de hospederos registrados de 25 géneros dentro de la familia Rutaceae. Principalmente ataca a los géneros *Citrus* y *Murraya*. Halbert y Manjunath (2004) presentan una lista muy completa de los hospederos citados para *D. citri*. La enfermedad ha sido encontrada en algunas especies no cítricas pero es un problema económico solamente en el género *Citrus*.

Algunas especies de rutáceas usadas como plantas ornamentales pueden tener importancia en la dinámica de la plaga (*Murraya paniculata*, *Severinia buxifolia*). El 'jazmín naranjo' o 'murraya', *Murraya paniculata*, es un hospedero de la bacteria y también del vector. Se ha encontrado que la murraya no es un hospedero preferente del psílido, sin embargo las brotaciones continuas que presentan pueden jugar un rol importante en mantener las poblaciones altas en momentos en que los cítricos no presentan brotaciones (Tsai et al., 2002).

## Daños

Se alimenta de la savia de las plantas hospederas y como consecuencia de su alimentación causa daños directos produciendo enrollamiento de hojas y brotes y muerte de la yema apical afectando de esta manera el normal desarrollo de las plantas. Estos daños se consideran importantes cuando las poblaciones son muy abundantes. Produce además, cantidades importantes de sustancias azucaradas donde se desarrollan los hongos saprofitos que originan 'fumagina' (Aubert, 1987; Chen, 1998; Michaud, 2004)

Sin lugar a dudas el daño principal de *D. citri* es como vector de la bacteria que causa el 'greening' o 'huanglongbing'. El huanglongbing originario de China es la enfermedad más grave y destructiva de los cítricos en el mundo. *D. citri* se considera la principal plaga de los cítricos en las zonas donde la enfermedad está presente. Este psílido es el vector de las cepas asiática y americana de la bacteria.

## Descripción

Los adultos de *D. citri* son insectos pequeños y de hábitos bastante sedentarios. El tamaño de la hembra es de aproximadamente 3 mm de largo y 1 mm de ancho siendo los machos algo más pequeños. En bajas poblaciones pueden pasar desapercibidos. En descanso se encuentran mayormente en el envés de las hojas y cuando son perturbados saltan y realizan vuelos cortos. Presentan el cuerpo de color marrón moteado cubiertos de secreciones cerosas. La cabeza es de color castaño con ojos rojos y antenas con el ápice negro. Las alas más anchas en su tercio apical presentan manchas marrones a lo largo de sus bordes. El abdomen presenta diferentes coloraciones: gris-amarronado, azul-verdoso y amarillo-anaranjado. La coloración parece no estar asociada a la madurez sexual ni a la cópula (Wenninger y Hall, 2008 a). Se posan en las plantas de una forma característica formando un ángulo de 45°. Se alimentan sobre tallos tiernos y hojas en todos sus estados de desarrollo.

Las hembras realizan la puesta solamente en brotes tiernos, fundamentalmente en los 2cm apicales, en lugares protegidos en pecíolos, yemas axilares, haz y envés de las hojas jóvenes y los tallos en crecimiento. Los huevos son alargados, ovalados, de 0,3mm de longitud y 0,14mm de ancho. Recién puestos presentan una coloración amarilla tornándose anaranjados próximo a la eclosión. La eclosión se produce a los 3 días de la puesta, aunque puede requerir un tiempo mayor o menor dependiendo de la temperatura.

Presenta 5 estadios ninfales. Las ninfas de 1er y 2do estadio muestran un comportamiento agregado, son muy pequeñas, achatadas y difíciles de observar. El primer estadio ninfal mide 0.3mm de largo y 0.17 de ancho, son rosadas y se destacan los ojos rojos. En el segundo estadio se comienzan a observar los rudimentos alares. En el tercer estadio se comienza a evidenciar la segmentación antenal. Las ninfas totalmente desarrolladas de 5to estadio miden 1.6mm de largo y 1.0mm de ancho. (Tsai y Liu, 2000). En general son sedentarias aunque pueden moverse si son perturbadas.

Las ninfas se alimentan de la savia del floema de hojas tiernas y pecíolos, también pueden alimentarse de tallos que aún no se han endurecido y los pedúnculos de flores y frutos recién formados. Excretan sustancias azucaradas y sustancias cerosas en forma de pellets blancos. La deposición de sustancias azucaradas inducen la formación de fumagina (Chen, 1998).

## Bioecología

Los adultos son débiles voladores y su dispersión a largas distancias es mediante el viento o el hombre (Knapp et al., 2006). Se ha reportado que psílicos en vuelo pueden ser transportados por el viento a distancias de entre 0,5 y 1 km dependiendo de la velocidad del viento y la duración del vuelo. Investigaciones realizadas en Florida (Estados Unidos) indican que un bajo número de adultos se dispersan rutinariamente desde los cítricos, al menos dentro de distancias de 8 a 60 m, y algunas evidencias de ocasionales migraciones masivas (Hall, 2008). Otros reportes indican que *D. citri* puede moverse a una distancia de 73m como media, alcanzándose una máxima de 350m en las condiciones de un monte de murraya en Japón (Nakata, 2005). Por otro lado, el material vegetal puede presentar huevos o ninfas que pasan desapercibidos y ésta puede ser la forma de dispersión principal de la plaga desde áreas infestadas a nuevas zonas.

Son insectos de hábitos diurnos, la cópula, la puesta y otras actividades se realizan durante el día (Wenninger y Hall, 2007). El encuentro de sexos para la cópula se realiza en parte usando sonidos de vibración en el sustrato (Wenninger et al., 2008b). Hay algunas evidencias que indican que las hembras emiten una feromona, la cual no está aún identificada (Wenninger et al., 2008c). Tanto machos como hembras copulan varias veces (Wenninger y Hall, 2008d).

La longevidad de los adultos es dependiente de la temperatura, se encontró que durante el invierno pueden sobrevivir más de 100 días, mientras que en verano viven aproximadamente 20 días. Alcanzan la madurez reproductiva entre 2 y 3 días de su emergencia (Wenninger y Hall, 2007). El período de oviposición es de 30-80 días (Chen, 1998). En ausencia de brotes la oviposición cesa momentáneamente. Las hembras poseen una alta capacidad reproductiva, en estudios de laboratorio el número medio de huevos por hembra varió con el hospedero, alcanzando más de 800 en pomelo (Tsai y Liu, 2000). La eclosión se produce a los 3 días de la puesta, aunque puede requerir un tiempo mayor o menor dependiendo de la temperatura (Liu et Tsai, 2000).

El desarrollo ninfal se completa entre 10 y 40 días. Se encontró que a una temperatura constante de 25° C la duración del ciclo es de entre 32 a 34 días dependiendo de la planta hospedera (Tsai y Liu, 2000). Según Liu y Tsai (2000) el umbral de desarrollo es de 10,45°C y la constante térmica de 250 grados días. Sin embargo Nava et al. (2007) hallaron un umbral de desarrollo de 13°C y una constante térmica de 210 grados días. Similarmente Nakata

(2006) reporta un umbral de desarrollo de 13,7°C y un tiempo de desarrollo de 50 grados días para los huevos y mientras que para las ninfas estos valores son de 11,6°C y 192,3 grados días.

Las poblaciones de *D. citri* están influidas por la disponibilidad de brotes y las condiciones de temperatura y humedad del ambiente (Aubert, 1987; Tsai et al., 2002; Halbert y Manjunat, 2004; Hall et al., 2008).

Durante las brotaciones las hembras realizan la puesta exclusivamente en los tejidos tiernos del ápice de los brotes y las poblaciones se incrementan. Las hojas expandidas no son sitios adecuados para la oviposición. En los períodos de escasez de brotes, los adultos pueden permanecer en la copa de los árboles alimentándose en las hojas maduras o pueden migrar a nuevas áreas que presenten brotes disponibles (Briansky y Rogers, 2007).

Este insecto es sensible a condiciones climáticas extremas. En condiciones de laboratorio se ha determinado que el rango de temperaturas óptimo para crecimiento poblacional es entre 15 y 28°C y que el insecto no llega a completar su desarrollo a temperaturas de 10°C y de 33°C (Liu y Tsai, 2000).

Las altas temperaturas provocan alta mortalidad, disminución de la fecundidad de las hembras y se acorta la longevidad de los adultos. Skelley y Hoy (2004) reportaron que las hembras cesan la puesta cuando la temperatura alcanza los 34°C durante cinco días. Nava et al. (2007) encontraron que a 32°C hay una disminución significativa de la viabilidad de las ninfas. Las ninfas criadas a 33°C entran en un estado de estivación permanente (Liu y Tsai, 2000).

Las bajas temperaturas provocan alta mortalidad, un menor  $r_m$ , menor fecundidad y mayor longevidad de las hembras. Los adultos son inactivos a temp menores a 8°C y no oviponen a temperaturas de menos de 15°C. Aubert (1987) señala que esta especie no tolera el frío, sin embargo en Florida (EEUU) se observó que pasó el invierno con temperaturas que alcanzaron los -5°C en algunas noches (Halbert y Manjunat, 2004). Xie et al. (1989) (citado por Waterhouse, 1998) plantean que puede sobrevivir en un rango de temperaturas extremas desde 45°C en Arabia Saudita hasta -7°C en China. A pesar de esto, las temperaturas invernales se consideran el factor determinante de la distribución de *D. citri* en China (Yang et al., 2006). Los inviernos con bajas temperaturas y con grandes fluctuaciones provocan alta mortalidad en las poblaciones del psílido (Ashihara, 2004; Huang et al., 1992 citado por Yang et al., 2006).

Yamamoto et al. (2001) y Hall et al. (2008) encontraron que las poblaciones de *D. citri* fueron más abundantes en primavera y comienzos del verano. Durante el otoño e invierno las poblaciones fueron bajas. No obstante, se pueden producir aumentos poblacionales en cualquier momento en el año dependiendo de las condiciones climáticas y la disponibilidad de brotes (Hall, 2006; Hall et al., 2008). En Florida con inviernos relativamente suaves los adultos invernan dentro de la copa de los árboles y se encuentran frecuentemente en el envés de las hojas maduras alimentándose en las nervaduras (Briansky y Rogers, 2007).

Otros factores climáticos que afectan los niveles poblacionales son la humedad relativa y las lluvias. McFarland y Hoy (2001) encontraron que la sobrevivencia de las poblaciones aumentó con mayor humedad relativa. Sin embargo *D. citri* logró sobrevivir a HR% de 7 y 33%, sugiriendo que puede dispersarse y sobrevivir en condiciones más áridas. Las lluvias intensas pueden producir arrastre mecánico de las ninfas aumentando la mortalidad en las poblaciones.

Los enemigos naturales tanto patógenos, como depredadores y parasitoides juegan un papel sustancial en la regulación de las poblaciones del vector. En Florida se encontró mediante el método de la exclusión que el psílido sufre una importante mortalidad debida a factores bióticos (Qureshi y Stansly, 2009)

Aubert (1987) indicó que los hongos patogénicos pueden ser el factor de mortalidad más importante de *D. citri* si las condiciones ambientales son favorables para su desarrollo. La alta humedad relativa es un requisito necesario para que se desarrollen las epizootias. Sin embargo, en Florida con condiciones de clima subtropical con alta humedad relativa, no es

común encontrar especímenes de *D. citri* afectados por hongos (Halbert y Manjunat, 2004). Los hongos patógenos reportados son: *Cladosporium* sp. nr. *Axysporum* (Aubert, 1987) e *Hirsutella citrifomis* (Etienne et al., 2001).

Los depredadores son un grupo de enemigos naturales que parecen contribuir de manera importante en el control natural de *D. citri*. Se han citado varias especies de sírfidos, coccinélidos, crisópidos y arañas como depredadores de mayor o menor importancia (Aubert, 1987; Michaud, 2004; González et al., 2003; Pluke et al., 2005; Qureshi y Stansly, 2009). Michaud, (2004) señala que los coccinélidos depredadores son la fuente más importante de control biológico de *D. citri* en Florida.

*D. citri* tiene dos parasitoides primarios bien conocidos: *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) y *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae). *Tamarixia radiata* es considerado el más eficiente. Las dos especies de parasitoides pueden presentar alta mortalidad debido a hiperparasitismo (Aubert, 1987).

*T. radiata* es un ectoparasitoide que prefiere parasitar a ninfas de *D. citri* de 5to estadio. Las hembras adultas se alimentan de ninfas más jóvenes. La acción combinada del parasitismo y el 'host feeding' puede producir una alta mortalidad en las poblaciones de *D. citri*. *D. aligarhensis* es un endoparasitoide de ninfas, principalmente de 4to estadio y también presenta 'host feeding'. Algunas poblaciones son telitoquicas estando infectadas por el endosimbionte intracelular *Wolbachia*.

En Brasil *T. radiata* se encuentra presente en prácticamente todas las áreas citrícolas del estado de San Pablo, con parasitismos variables entre 27 y 80% (Parra et al., 2006). También en Cuba (González et al., 2006) y en Argentina (Cáceres et al., 2008) se han encontrado porcentajes relativamente altos de parasitismo de ninfas por *T. radiata*. Sin embargo en estudios realizados en Florida se observó que, aunque los factores bióticos son importantes en la mortalidad de las poblaciones de *D. citri*, el parasitismo por *T. radiata* correspondió solamente a 1-3% de la mortalidad ninfal (Qureshi y Stansly, 2009).

## Relación insecto-patógeno

La dinámica, epidemiología y las características del complejo insecto/bacteria no se conocen bien (Halbert and Manjunath, 2004).

Los adultos y el 4to y 5to instar ninfal son capaces de transmitir a la bacteria. Existen reportes variados en cuanto al tiempo necesario de alimentación para la adquisición de la bacteria desde 15 minutos hasta 5 horas. El patógeno permanece latente dentro del insecto entre 3 y 20 días. Una vez que el psílido lo adquiere es capaz de transmitirlo durante toda la vida (Chen, 1998). La bacteria adquirida durante el estado de ninfa permanece en el insecto adulto el cual es capaz de transmitir la enfermedad inmediatamente después de la emergencia. No se trasmite vía huevo. Probablemente la bacteria se multiplique en el vector (Aubert, 1987) aunque no está demostrado hasta el momento.

En estudios realizados en Florida se ha encontrado que cuando *D. citri* se mantiene en laboratorio durante 7 días sobre plantas infectadas con HLB, menos del 5% fueron positivos para la presencia de *C. L. asiaticus*, usando PCR. Sin embargo, cuando aumenta el tiempo de exposición, se ha obtenido entre un 20 y 30% de positivos, después de 30 días de confinamiento. También se ha observado que los psílicos adultos son capaces de adquirir a la bacteria de plantas asintomáticas, aunque no la adquieren de las partes de la planta infectada que no da resultados positivos por PCR (Briansky y Rogers, 2007). La eficiencia en la transmisión no se conoce bien y puede ser variable dependiendo de las condiciones ambientales. La tasa de transmisión del HLB es alta en la primavera (Chen, 1998).

## Control químico

La información disponible sobre el control químico de insectos vectores, es fundamentalmente para áfidos y la transmisión de virus. En general el control de vectores con el uso de insecticidas para prevenir infecciones, es dificultoso ya que unos pocos individuos alados son necesarios para provocar una dispersión importante del virus. Se considera que los insecticidas de contacto tendrían un uso limitado ya que serían necesarias aplicaciones frecuentes. Los insecticidas persistentes, incluidos los sistémicos, han mostrado alguna eficiencia en el control de virus, al controlar al vector.

En las áreas donde se encuentran simultáneamente el insecto vector y el patógeno, el control químico del psílido es considerada una medida necesaria para el control de sus poblaciones. Se aconseja el control del vector aunque las plantas estén aparentemente libres de la enfermedad (Aubert, 1987). El control químico de esta plaga puede presentar dificultades también por las características propias del insecto al ser una especie asociada estrechamente a tejidos en crecimiento y presentar un ciclo biológico corto con gran número de generaciones. Un programa para rehabilitar la producción en un área afectada de Huanglongbing puede requerir un número elevado de tratamientos por año durante los períodos de brotación. La determinación de los momentos oportunos de tratamientos, en momentos de mayor abundancia de estados sensibles, es crítica para realizar un manejo adecuado (Rae et al., 1997).

Hay algunos ejemplos donde se evidencia que bajas poblaciones del vector han limitado la dispersión del patógeno. En China, en áreas de baja altitud, las poblaciones de *D. citri* son muy altas y la enfermedad ha limitado seriamente la producción de cítricos. Sin embargo, en mayores altitudes, el HLB no es un problema (Xueyuan, 2006). En estas condiciones la sobrevivencia del psílido es baja y la dispersión de la bacteria está limitada, pero el frío puede afectar también a las plantas cítricas.

En Florida y en Brasil las condiciones climáticas son adecuadas para que se produzcan crecimientos importantes de las poblaciones del psílido. En Florida se considera impráctico intentar eliminar las poblaciones a niveles no detectables ya que se requeriría un número muy grande de aplicaciones de insecticidas. Se plantea como una posibilidad el dirigir las aplicaciones a momentos donde es más probable que ocurra la dispersión del patógeno. Para esto se necesitan más conocimientos de la dinámica del insecto y de la bacteria; por ejemplo la determinación de los periodos en los cuales los psílicos se mueven e infectan plantas sanas. Una posibilidad sería el control de los adultos invernantes, al considerar que los que estuvieron alimentándose sobre plantas infectadas, tienen más probabilidad de dispersar la enfermedad al moverse en la primavera en búsqueda de brotes adecuados (Briansky y Rogers, 2007). En este sentido, Irey et al. (2008) y Rogers et al. (2009) recomiendan, en montes en producción, la aplicación de insecticidas de amplio espectro previo a la brotación inicial de primavera. Afirman que una vez que los psílicos comienzan a reproducirse sobre los nuevos brotes, es más dificultoso obtener su control a la vez que se reducen los productos que se pueden utilizar.

De todas maneras, en Brasil como en Florida el advenimiento del HLB ha provocado, hasta el momento, un incremento importante de los tratamientos químicos realizados por año y mayores costos. Actualmente se plantea una estrategia de control del vector para viveros con la aplicación de insecticidas sistémicos, para árboles jóvenes (0-3 años) con aplicaciones de insecticidas sistémicos al tronco y al suelo más fumigaciones, y para árboles en producción fundamentalmente con aplicaciones de insecticidas foliares como parte de un programa básico de tratamientos más el monitoreo de *D. citri*. (Antunes, 2008)

## Control biológico

Para el control de este psílido se han llevado adelante en el mundo varios programas de control biológico clásico con la utilización de *T. radiata* (Waterhouse, 1998). La introducción de este parasitoides en la Isla Reunion ha mejorado sustancialmente la producción de cítricos (Aubert et al., 1996). Este éxito notable, puede deberse en parte, a que en la isla no estaban presentes hiperparasitoides que limitaran su eficiencia (Halbert y Manjunat, 2004). *T. radiata* fue introducida también en Guadalupe, aparentemente con muy buenos resultados (Etienne et al., 2001). En Florida se liberaron ambos parasitoides *T. radiata* y *D. aligarhensis* (McFarland y Hoy, 2001; Hoy et al., 2004). En esta región no se obtuvieron resultados tan buenos. Aparentemente solamente *T. radiata* se estableció pero los porcentajes de parasitismo son bajos probablemente debido a predación intra guild (Michaud, 2004). Se encontró mediante el método de la exclusión que el psílido sufre una importante mortalidad debida a factores bióticos, sin embargo el parasitismo por *T. radiata* correspondió solamente a 1-3% de la mortalidad ninfal (Qureshi y Stansly, 2009)

En Brasil se programó la introducción de esta especie, pero antes de efectuarse se encontró espontáneamente en el campo (Fundecitrus, 2005a).

## Bibliografía

- Antunez, T. 2008. Current situation of HLB in Brazil and eradication program. Workshop on Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter* spp) and the Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*) Hermosillo, Sonora. México 7-9/V/2008.
- Ashihara, W. 2004. Survival of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama under winter temperature conditions in central and south Kyushu. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 48: 207-211.
- Aubert, B. 1987. *Trioza erytrae* del Guercio and *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. Fruits 42: 149-162.
- Aubert, B. 1992. Citrus greening disease, a serious limiting factor for citricultura in Asia and Africa. Proc. Int. Soc. Citriculture 2: 817-820.
- Aubert, B., M. Grissoni, M. Villemin, and G. Rossolin. 1996. A case study of huanglongbing (greening) control in Reunion. Pp 276-278. In J.V. da Graca, P. Moreno, and R. K. Yokomi eds. Proc. 13<sup>th</sup> Conference of the International Organization of Citrus Virologist (IOCV) University of California, Riverside.
- Bellis, G.; D. Hollis; S. Jacobson. 2005. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), and huanglongbing disease do not exist in the Stapleton Station area of the Northern Territory of Australia. Australian J. Entomol. 44: 68-70.
- Bernal, R. 1991. *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) nuevo insecto detectado en montes cítricos en el área de Salto, Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Hoja de divulgación N° 25, 1p. Dic 1991.
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. J. Plant Pathol. 88: 7-37.
- Briansky, R.H. & M.E. Rogers. 2007. Citrus huanglongbing: understanding the vector-pathogen interaction for disease management. APSnet. <http://www.apsnet.org/online/feature/HLB/>
- Cáceres, S.; A. Aguirre; V. Miño; I. Almirón; E. González & F. Heredia. 2008. Líneas de acción para implementar el manejo de *Diaphorina citri* en Corrientes. Pag. 23-24. In Primera reunión de entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector.

- EEA INTA Bella Vista, Corrientes Argentina, 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica N° 29 ISSN 1515-9299.
- Cermeli, M.; P. Morales y F. Godoy. 2000. Presencia del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. Bol Entomol Venez 15:235-243.
- Chen, Chiou-nan. 1998. Ecology of the insect vectors of citrus systemic diseases and their control in Taiwan. Pag. 62-66. In A.B. Molina, V.N. Roa, J. Bay-Petersen, A.T. Carpio, J.E.A. Joven, editors. Managing banana and citrus diseases. Proceedings of a regional workshop of disease management of banana and citrus through the use of disease - free planting held in Davao city Philippines 14-16 Oct. 1998. 163 pag. <http://www.fftc.agnet.org/library/>
- Étienne, J.; S. Quilici; D. Marival ;and A. Franck. 2001. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera :Psyllidae) in Guadalupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera : Eulophidae). Fruits 56 : 307-315.
- Fauvergue, X. And S. Quilici. 1991. Etude de certains paramètres de la biologie de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera : Eulophidae), ectoparasitoïde primaire de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera : Psyllidae), vecteur asiatique du greening des agrumes. Fruits 46 : 179-185.
- Fundecitrus. 2004. Manual de greening. <http://fundecitrus.com.br/manuais>
- Fundecitrus. 2005a. Revista Fundecitrus Edición 126: 8-9. <http://fundecitrus.com.br/revista>
- Fundecitrus. 2005b. Revista Fundecitrus Edición 127:10.11. <http://fundecitrus.com.br/revista>
- Garay, L.C. 2008. Situación del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing de los cítricos en la República del Paraguay. Pag. 14. In Primera reunión de entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector. EEA INTA Bella Vista, Corrientes Argentina, 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica N° 29 ISSN 1515-9299.
- Garnier, M., S. Jagoueix-Eveillard, P.R. Cronje, G.F. Le Roux, and J.M. Bove. 2000. Genomic characterization of a Liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, *Calodendrum capense*, in the Western Cape province of South Africa. Proposal of *Candidatus Liberibacter africanus* subsp. *Capensis*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 50 : 2119-2125.
- Gastaminza, G.; M. Lizondo & L. Augier. 2008. Programa de detección del HLB y su insecto vector en la región citrícola del NOA. Pag. 15-22. In Primera reunión de entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector. EEA INTA Bella Vista, Corrientes Argentina, 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica N° 29 ISSN 1515-9299.
- González, C. , M. Borges, D. Hernández, and J. Rodríguez. 2003. Inventory of natural enemies of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Cuba. Proc. International Soc. Citriculture 9: 859.
- Halbert, S.E. and K.L. Manjunath. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease in citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist 87: 330-353.
- Halbert, S.E. and C.A. Nuñez. 2004. distribution of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean Basin. Florida Entomologist 87: 401-402
- Halbert, S.E., C.L. Niblett, K.L. Manjunath, R.F. Lee, and L.G. Brown. 2003. Establishment of two new vectors of citrus pathogens in Florida. Proc. International Soc. Citriculture 9:1016-1017.
- Hall, D.G. 2006. Biology and ecology of the asian citrus psyllid in Florida. Pag 29. In Proceedings of the Huanglongbing-greening International workshop. 16-20 jul, 2006. Ribeirao Preto, SP, Brasil.
- Hall, D.G. 2008. Biology, history and world status of *Diaphorina citri*. In I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus Liberibacter* spp.) y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*).



- Hall, D.G; m.G. Hentz & R.C. Adair, Jr. 2008. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. *Environ. Entomol.* 37: 914-924.
- Horton; D. R. And T.M.Lewis. 1997. Quantitative relationship between sticky trap catch and beat tray counts of pear psylla (Homoptera: Psyllidae). *J. Econ. Entomol.* 90: 170-177.
- Hoy, M.A., R. Nguyen and A. Jeyaprakash. 2004. Classical Biological Control of Asian Citrus psylla in Florida. <http://ipm.ifas.ufl.edu/agricultural/fruit/citrus>
- Hung, T.H., M.L. Wu and H.J.Su. 2000. Identification of alternative hosts of the fastidious bacterium causing citrus greening disease. *J. Phytopathology* 148: 321-326.
- Irey, M. S.; T. Gast and Jim Snively. 2008. Grove management at Southern Gardens Citrus in the presence of Huanglongbing. Workshop on Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter* spp) and the Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri*) Hermosillo, Sonora. México 7-9/V/2008.
- Kalita, H. and B.P. Baruah. 2001. Population build up of certain citrus pests in relation to weather factors. *J. Applied Zoological Researches* 12: 51-52.
- Krysan, J.L. and D.R. Horton. 1991. Seasonality of catch of pear psylla *Cacopsylla pyricola* (Homoptera: Psyllidae) on yellow traps. *Environ. Entomol.* 20: 626-634.
- Knapp; J.L., S. Halbert, R. Lee, M. Hoy, R. Clark, and M. Kesinger. 2006. The Asian Citrus Psyllid and Citrus Greening Disease. <http://ipm.ufl.edu/agricultural/fruit/citrus/>
- Knighjten, C. , J. Reeding, D. Feiber, and L. Comptom. 2005. U.S. Department of agriculture and Florida Department of agriculture confirm detection of citrus greening. <http://www.aphis.usda.gov/lpa/news/2005/09/greening>
- Liu, Y.H. and J.H. Tsai. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Ann. Appl. Biol.* 137: 201-206.
- McFarland, C.D. and M.A. Hoy. 2001. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae). Under different relative humidities and temperature regimes. *Florida Entomol.* 84: 227-233.
- Michaud, J.P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biol. Control* 29: 260-270.
- Michaud, J.P and L.E. Olsen. 2004. Suitability of Asian citrus, *Diaphorina citri*, as prey for ladybeetles. *BioControl* 49: 417-431.
- Nakata, T. 2005. Moving distance a day of the released citrus psyllid, *Diaphorina citri* using a newly developed marking method. *JIRCAS Researches Highlights*, 2005. Okinawa Subtropical Station.
- Nakata, T. 2006. Temperature dependent development of citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of its spread based on the overwintering in the nymphal stage in temperate regions of Japan. *Appl. Entomol. Zool.* 41: 383-387
- Nava, D.E.; M.L.G. Torres; M.D.L. Rodrigues; J.M.S. Bento and J.R.P. Parra. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *J. Appl. Entomol.* 131: 709-715.
- Nehru, R. K. K.C. Bhagat and V.K. Koul. 2004. Influence of citrus species on the development of *Diaphorina citri*. *Annals Plant Protection Sciences* 12: 436-438.
- Parra, J.R, D.E. Nava and M.L. Gómez Torres. 2006. Biology and rearing techniques for the biological control of *Diaphorina citri*. Pag 31. In *Proceedings of the Huanglongbing-greening International workshop*. 16-20 jul, 2006. Ribeirao Preto, SP, Brasil.
- Pluke, R.W.H., A. Escribano, J.P. Michaud and P.A. Stansly. 2005. Potential impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist* 88: 123-128.
- Quilici, S., H. Joulain and R. Manikom. 1992. Etude de la fécondité de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera : Eulophidae), ectoparasitoïde primaire du psylle

- asiatique *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemoptera : Psyllidae), vecteur du greening des agrumes. *Fruits* 47: 184-194.
- Qureshi, J. A. & P.A. Stansly. 2009. Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. *Biological Control* *accepted manuscript*.
- Rae, D.J., W.G. Liang, D.M.Watson, G.A.C. Beattie, and M.D. Huang. 1997. Evaluation of petroleum spray oils for control of Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera : Psyllidae), in China. *International Journal of Pest Management* 43: 71-75.
- Rogers, M.E.; P.A. Stansly & L.L. Stelinski. 2009. University of Florida. Florida Citrus Pest Management Guide: Asian Citrus Psyllid and Citrus Leafminer.
- Shivankar, V.J.; C.N. Rao and Shyam Singh. 2005. Predisposing factors of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama incidence. *J. Applied Zoological Researches* 16: 26-27.
- Skelley, L.H. and M.A., Hoy. 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. *Biological Control* 29:14-24.
- Tapia, S. 2008. Detección y distribución de *D. citri* en Jujuy y Salta. Pag. 27-28. In Primera reunión de entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector. EEA INTA Bella Vista, Corrientes Argentina, 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica Nº 29 ISSN 1515-9299.
- Teixeira, D.C. A.J. Ayres, E.W. Kitajima, F.A.O. Tanaka, J.L.Danet, S. Jagoueix-Eveillard C. Saillard & J.M. Bové. 2005. First report of a Huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo Sate, Brazil, and association of a new liberibacter species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. *Plant Dis.* 89:107.
- Tsai, J.H. and Y.H. Liu. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in four host plants. *J.Econ.Entomol.* 93:1721-1725.
- Tsai, J.H.; J.J. Wang and Y.H., Liu. 2002. Seasonal abundance of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomologist* 85: 446-451.
- Vaccaro, N. & J.P. Bouvet. 2008. *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata*. Actividades e Entre Ríos y sur de Corrientes. Pag. 29-30. In Primera reunión de entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector. EEA INTA Bella Vista, Corrientes Argentina, 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica Nº 29 ISSN 1515-9299.
- van den Berg, M.A. 1998. Citrus psylla. *Trioza erytreae* (DelGuercio). Pag. 92-102. In Citrus pests in the Republic of South Africa. Edit. E.C.G. Bedford, M.A. van den Berg, E.A. de Villiers.
- Vargas, M. 2008. Primer registro del psilio asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hem.: Psyllidae), en Santa Cruz, Bolivia. Pag. 30-34. In Primera reunión de entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector. EEA INTA Bella Vista, Corrientes Argentina, 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica Nº 29 ISSN 1515-9299.
- Waterhouse, D.F. 1998. *Diaphorina citri* Kuwayama. pp 114-132. In Biological control of insect pests:southeast asian prospects. Australian Center for International Agricultural Research.
- Weninger, E. J. & D. G. Hall. 2007. Daily timing of and age at mating in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Fla. Entomol.* 90: 715-722.
- Weninger, E. J. & D. G. Hall. 2008a. Daily and seasonal patterns in abdomen color in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Annals Entomol. Soc. America.* 101: 585-592.
- Weninger, E.J. D. G. Hall & R. W. Mankin. 2008b. Vibrational communication between the sexes in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Annals Entomol. Soc. America.*
- Weninger, E. J., L.L. Stelinsky & D. G. Hall. 2008c. Behavioral evidence for a female-produced sex attractant in *Diaphorina citri*. *Entomol. Experi. et Appli.* 128: 450-459.
- Weninger, E. J. & D. G. Hall. 2008d. Importance of multiple mating to female reproductive output in *Diaphorina citri*. *Phys. Entomol.* 33: 316-321.
- Xueyuan, Z. 2006. Huanglongbing in China. Pag. 3. In Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, July 16-20 2006. Riberao Preto, Brazil.

- Yamamoto, P.T.; P.E.B., Paiva and S. Gravena. 2001. Fluctuacao populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) em pomares de citros na regioao norte do estado de Sao Paulo. Neotropical Entomology 30: 165-170.
- Yang, Y.; M. Huang; G.A.C. Beattie; Y. Xia; G. Oyang; J. Xiong. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a mayor pest of citrus: A status report for China. International J. of Pest Management. 52: 343-352.

## 2) PRINCIPALES AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN EN URUGUAY

### 2.1 AVANCES EN LOS RESULTADOS SOBRE LA DURACIÓN DEL CICLO DE VIDA DEL “PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS”, *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)

Soledad Amuedo<sup>1</sup> y Gabriela Asplanato<sup>2</sup>

#### Introducción

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae) es una plaga de los cítricos y plantas emparentadas (Mead, 1977). *D. citri* provoca daños directos sobre las plantas a través de la actividad alimentaria, extrayendo grandes cantidades de savia y eliminando al exterior abundante mielcilla. Estos daños son de mayor relevancia en altas infestaciones, en especial en plantas de vivero o recién implantadas (Grafton-Cardwell et al., 2006). El daño más serio causado por el insecto es la capacidad de ser un eficiente vector de las bacterias, *Candidatus Liberibacter asiaticus* y *Candidatus Liberibacter americanus*, que causan el Huanglongbing (HLB) en los cítricos. Los árboles afectados por la enfermedad pueden vivir solamente cinco a ocho años, durante ese periodo hay importantes pérdidas en los rendimientos y en la calidad de la fruta. En las regiones donde bacteria y vector están presentes simultáneamente la viabilidad de la citricultura se ve comprometida seriamente (Bové, 2006).

En Uruguay el psílido fue detectado por primera vez en 1991 (Bernal, 1991). Hasta el momento no ha sido observada la enfermedad en el país. En 2004 fue reportada la presencia del HLB en Brasil, afectando importantes áreas del estado de San Pablo (Coletta-Filho et al., 2004). En el 2005 y 2006 se detectó la enfermedad en Florida (EEUU) y Cuba, respectivamente (Bové, 2006; Martinez et al., 2008). A pesar de la gran importancia económica de *D. citri* como uno de los vectores de HLB, poco se sabe sobre el efecto de la temperatura sobre el ciclo de vida del insecto, esta información podría permitir el mejor entendimiento de la fluctuación de poblaciones de la plaga, así como también permitir establecer una cría continua para propósitos de control biológico. De esta manera se iniciaron estudios sobre la duración del ciclo de vida de *D. citri* a 25°C para obtener información que permita tener una base experimental para conocer el efecto de la temperatura sobre el desarrollo del insecto.

#### Materiales y Métodos

##### Material vegetal

Se utilizaron plantines de *Citrus limonia* (L.) Osbeck, de cuatro meses de edad y 20 cm de altura. Los mismos se mantuvieron en invernáculo de vidrio con riegos y fertilizaciones periódicas hasta alcanzar el tamaño necesario para los estudios y fueron entonces podados para obtener brotes susceptibles a la puesta de *D. citri*.

<sup>1</sup> Ing. Agr. Ayudante de investigación-FPTA

<sup>2</sup> Dr. Ing. Agr. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía

## Insectos

Fueron colectados adultos con un aspirador en un huerto comercial localizado en Itapebí, departamento de Salto. Posteriormente se transportaron hasta el laboratorio de Entomología de la Facultad de Agronomía en Montevideo, dentro de un container con refrigerante. Los insectos fueron liberados en cajas construidas con caños de PVC y fundas de voile, dentro de las cuales se colocaron entre 10 y 12 plantas de *Citrus limonia* (L.) Osbeck. Debido a la baja intensidad luminosa en el interior de la sala de cría fue necesario instalar en cada caja una lámpara de luz fría de 100W la cual se mantuvo encendida de 8 am hasta 24 pm. La sala de cría fue mantenida a una temperatura de  $25 \pm 5$  °C con un equipo de aire acondicionado convencional.

## Estudios de laboratorio

Dentro de cajas de acrílico con hembras y machos de *D. citri* provenientes de campo, diariamente fueron colocados ocho plantines de *Citrus limonia*. Al siguiente día las plantas en las que fue detectada la presencia de posturas fueron trasladadas a una cámara de cría  $25 \pm 1$ °C, 16:8 (luz:oscuridad) fotoperíodo. Sobre las plantas fue colocado un farol de vidrio o plástico. Diariamente se realizan observaciones para detectar la primera y última emergencia de adultos. Los adultos emergidos fueron sexados.

## Resultados

En el cuadro 1 se resume la información obtenida. No se encontraron diferencias entre sexos. El valor máximo de la duración del ciclo para hembras y machos fue 26 y 25 días respectivamente. El mínimo valor observado fue 17 días.

Cuadro 1: Duración media y límites de confianza al 95% del ciclo total de *Diaphorina citri* a 25°C criadas sobre plantines de *Citrus limonia*.

	n	Duración (días)	Li	Ls
Hembras	33	19,56	15,81	23,73
Machos	47	19,35	16,17	22,82
Total	80	19,44	16,16	23,02

Los valores obtenidos son muy similares a los reportados por Nava et al. (2007), utilizando la misma metodología de trabajo la duración promedio fue 17 días. En otro trabajo con similares condiciones de temperatura, humedad y fotoperíodo de las del presente trabajo y distintas plantas hospederas la duración del ciclo de vida varió entre 16 y 18 días. Estos autores no encontraron diferencias significativas en la duración de huevo a adulto entre hospederos. (Tsai and Liu, 2000). Catling (1970) reporta una duración de tres días para el período embrionario y 11 a 15 días para el estado ninfal, a temperaturas de 25-26°C.

## Bibliografía

- Bernal, R. 1991. *Diaphorina citri* (Homoptera:Psyllidae). Nuevo insecto detectado en montes cítricos en el área de Salto, Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Salto Grande, Uruguay. Hoja de divulgación n°25. 2p.
- Bové, J. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century old disease of citrus. *J. Plant Pathol.* 88: 7-37.
- Catling, H. D. 1970. Distribution of psyllid vectors of citrus huanglongbing disease with notes on the biology and bionomics of dipahorina citri. *Plant Prot. Bull.* 18, 8-15.
- Coletta- Filho, H. D.; Targon, M. L. P.; Takita, M. A.; De Negri, J. D.; Pompeu, J.; Machado, M. A. 2004. First report of the causal agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. *Plant Disease.* 88: 1382.
- Grafton-Cardwell, E.; Godfrey, K.; Rogers, M.; Childers, C.; and Stansly, P. 2006. Asian citrus psyllid. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 8205. 8p.
- Martinez, Y.; R. Llauger; L. Batista; M. Luis; A. Iglesia; C. Collazo; I. Peña; J.C. Casín; J. Cueto & L. M. Tablada. 2008. First report of *Candidatus Liberibacter asiaticus* associated with Huanglongbing in Cuba. *New Disease Reports Vol 18.* <http://www.bspp.org.uk/publication/new-disease-reports/>
- Mead, F. W. 1977. The asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Fla. Dept. Agric. and Consumer Serv. División of Plant Industry. Entomological Circular 180. 4p.
- Nava, D. E.; Torres, G. L. M.; Rodríguez, M. D. L.; Bento, J. M.; Parra, J. R. P. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem.; Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *Journal of Appl. Entomol.* 131 (9-10): 709-715.
- Tsai, J. H and Liu, Y.H. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera:Psyllidae) on four host plants. *Journal of Economic Entomology.* 93(6): 1721-1725.

## 2.2 PRESENCIA DE *D. citri* EN LAS DISTINTAS ZONAS CITRÍCOLAS

Gabriela Asplanato<sup>1</sup>; José Buenahora<sup>2</sup>; Leticia Rubio<sup>3</sup>; Soledad Amuedo<sup>4</sup> y Jorge Pazos<sup>5</sup>

### Objetivo

El objetivo de este trabajo fue determinar la distribución actual *Diaphorina citri* en las distintas zonas citrícolas, como primer paso para evaluar la situación en que se encuentra la plaga en Uruguay.

### Materiales y métodos

Se realizaron muestreos periódicos durante tres temporadas (06-07, 07-08 y 08-09) en las dos principales zonas citrícolas. Fueron seleccionadas 10 y 12 parcelas en la zona sur y norte del país respectivamente. Las parcelas de la zona norte se ubicaban en diferentes localidades de los departamentos de Salto, Paysandú, Río Negro y Rivera (Fig. 1). En la zona sur se seleccionaron parcelas ubicadas en los departamentos de Colonia, San José, Montevideo, Canelones, Maldonado y Durazno.

En cada parcela se instaló un número mínimo de cinco trampas de pegamento amarillas. Quincenalmente se registró el número de adultos capturados por trampa. En los periodos de brotación se efectuaron de uno a tres muestreos de brotes. Se tomaron al azar 60 brotes de cada parcela. En laboratorio se registró la presencia de estados juveniles en los brotes. En la última temporada de estudio se agregaron el método de golpeo y la observación visual para la evaluación de adultos. Para estos métodos, en cada fecha se tomaron cuatro ramas/ árbol en árboles seleccionados al azar. En el momento en que se detectaba la planta se detenía el muestreo, con un número máximo de 30 árboles observados.



Figura 1. Ubicación geográfica de las parcelas

<sup>1</sup> Dr. Ing. Agr. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía

<sup>2</sup> Ing. Agr. Programa Nacional de Producción Citrícola. INIA-Salto Grande.

<sup>3</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

<sup>4</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

<sup>5</sup> Ing. Agr. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía

### **Principales avances**

La plaga se registró en prácticamente todas las parcelas de la zona norte (Cuadro1). Solamente no se encontró en las parcelas ubicadas en Rivera y en la localidad de Piñera durante las tres temporadas. En algunos de los sitios de estudio *D. citri* aparece como una plaga constante, encontrándose en más del 50% de los muestreos realizados. Por ejemplo en las parcelas ubicadas en Itapebí y Quebracho se encontró al psílido durante las tres temporadas de estudio en más del 50% de los muestreos (Cuadro 1). Sin embargo en otros, es un insecto ocasional.

Por el contrario, en la zona sur no se encontró en ninguno de los sitios en los muestreos realizados durante todo el periodo de estudio (Cuadro 1).



Cuadro 1. Presencia de *Diaphorina citri* en distintas localidades de las zonas cítricas norte y sur de Uruguay

		2006-2007		2007-2008		2008-2009							
		Inmad. brotes	Adultos trampas	Inmad. brotes	Adultos trampas	Inmad. brotes	Adultos trampas						
Localidad	Variedad	Pres.Total *	Pres.Total *	Pres.Total	Pres.Total	Pres.Total	Pres.Total						
Itapebí	Tangor Ortanique	10	10	11	16	6	11	10	25	12	13	18	18
Constitución	Tangor Ortanique	7	7	10	16	8	11	5	24	6	7	4	10
San Antonio	Naranjos W. Navel	-	-	-	-	12	14	5	17	6	6	1	10
Constancia	Tangor Ortanique	8	9	1	16	0	13	0	21	0	5	0	8
Piñera	Mandarinos Clemenules	0	4	0	11	0	5	0	20	0	3	0	7
Quebracho	Naranjos W. Navel	10	10	15	17	13	14	12	24	13	15	10	20
Cerro Chato	Tangor Ortanique	7	10	6	19	0	15	5	23	0	10	0	19
Cerro Chato	Naranjos W. Navel	-	-	-	-	9	17	7	24	6	13	0	19
Cerro Chato	Naranjos Valencia	2	8	0	21	3	14	0	23	0	6	0	19
Young	Naranjos W. Navel	0	4	0	11	1	6	0	20	0	4	0	7
Rivera	Naranjos W. Navel	-	-	-	-	0	3	0	7	0	1	0	7
Colonia del Sacramento	Limoneros	0	1	0	9	0	3	0	19	0	3	0	10
Kiyú HK	Limoneros	-	-	-	-	-	-	0	15	0	2	0	10
Kiyú HK	Tangor Ortanique	0	1	0	23	0	11	0	18	0	3	0	10
Kiyú Y	Tangor Ortanique	0	2	0	15	0	9	0	15	0	4	0	10
Libertad	Tangor Ortanique	0	1	0	8	0	9	0	13	0	3	0	10
Punta Espinillo	Tangor Ortanique	-	-	0	10	0	11	0	17	0	4	0	10
Cerrillos	Tangor Ortanique	-	-	0	7	0	2	0	12	0	1	0	6
Gregorio Aznaréz	Naranjos W. Navel	0	2	0	12	0	3	0	19	0	2	0	7
Durazno	Vivero	-	-	0	8	-	-	0	13	-	-	-	-

\*Número de muestreos donde se encontró *D. citri* y total de muestreos realizados

## 2.3 FLUCTUACIÓN DE LAS POBLACIONES Y PARASITISMO

Gabriela Asplanato<sup>1</sup>; José Buenahora<sup>2</sup>; Soledad Amuedo<sup>3</sup> y Leticia Rubio<sup>4</sup>

### Introducción

La abundancia de *Diaphorina citri* depende de la disponibilidad de brotes y de las condiciones climáticas fundamentalmente de la temperatura (Aubert, 1987; Tsai et al., 2002; Halbert y Manjunat, 2004; Hall et al., 2008; Pluke et al., 2008). En zonas donde el clima y el riego favorecen que las plantas broten de forma más abundante y continua, las poblaciones del psílido se incrementan (Pluke et al., 2008).

Este insecto es sensible a condiciones climáticas extremas. En condiciones de laboratorio se ha determinado que el rango de temperaturas óptimo para crecimiento poblacional es entre 15 y 28°C y que el insecto no llega a completar su desarrollo a temperaturas de 10°C y de 33°C (Liu y Tsai, 2000).

Yamamoto et al. (2001) y Hall et al. (2008) encontraron que las poblaciones de *D. citri* fueron más abundantes en primavera y comienzos del verano. Durante el otoño e invierno las poblaciones fueron bajas. No obstante, se pueden producir aumentos poblacionales en cualquier momento en el año dependiendo de las condiciones climáticas y la disponibilidad de brotes (Hall, 2006; Hall et al., 2008).

El primer objetivo de este trabajo es determinar el patrón de fluctuación de la abundancia de las poblaciones de *Diaphorina citri* en las condiciones de Uruguay. Un segundo objetivo es conocer los parasitoides presentes y estimar su efecto en las poblaciones de la plaga. Estos conocimientos son básicos para el desarrollo de planes de manejo integrado del insecto en el cultivo.

### Materiales y métodos

Los estudios se realizaron en dos parcelas de tangor Ortanique ubicadas en las localidades de Itapebí y Cerro Chato y una de naranjos W. Navel ubicada en Quebracho. La parcela de tangor ortanique de Cerro Chato se mantuvo sin tratamientos insecticidas. En los otros cuadros se efectuó un uso restringido de insecticidas para el control de cochinilla roja y mosca de la fruta.

Para el seguimiento de las poblaciones de los psílidos adultos se colocaron trampas amarillas. El número de trampas por parcela fue variable: temporada 2006-2007 se colocaron 5 trampas en las parcelas de naranjos y 25 en la de tangor, éstas últimas fueron mantenidas durante los siguientes períodos de estudio, en 2007-2008 se agregaron 5 trampas a la parcela de Quebracho, totalizando 10 trampas. Durante la última temporada el número de trampas fue 25 en cada parcela. Las trampas se cambiaron quincenalmente.

En la última temporada 2008-2009 se agregó otro método de muestreo de adultos, el golpeo de ramas. Para este método, en cada uno de los árboles donde se colocaron las trampas se tomaron al azar 4 ramas (una por cuadrante). Se golpeaba la rama tres veces, colocándose debajo una plancha engomada. La observación y conteo de los insectos se realizó en el campo. La frecuencia de los muestreos fue quincenal.

La población de inmaduros se evaluó tomando al azar 4 brotes/árbol (uno de cada cuadrante). En laboratorio se contaron todos los estados inmaduros presentes por brote. Se registró la presencia de individuos parasitados.

<sup>1</sup> Dr. Ing. Agr. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía

<sup>2</sup> Ing. Agr. Programa Nacional de Producción Citrícola. INIA-Salto Grande

<sup>3</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

<sup>4</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

Para estimar la intensidad de brotación se contabilizaron todos los brotes presentes en un marco de ½ m<sup>2</sup> o 1m<sup>2</sup> colocado en dos caras de la copa de los árboles, dependiendo del tamaño de las plantas. Los brotes se discriminaron por tipo.

Para el análisis estadístico de la abundancia se utilizó un modelo lineal generalizado con función de enlace log. Para probar las hipótesis se utilizó la prueba de razón de verosimilitud.

### Principales avances

La abundancia de las poblaciones del psílido mostraron diferencias significativas entre las parcelas del estudio y entre años (Cuadro1).

Analizando la fluctuación estacional de las poblaciones en relación a los períodos de brotación, podemos afirmar que todas las brotaciones de los cítricos pueden ser potencialmente atacadas por la plaga. Ya en la brotación de primavera se pueden observar en algunos años, una relativa alta abundancia de *D. citri* (Figuras 1,2,3).

La plaga en las condiciones del estudio no mostró un patrón definido de fluctuación, mientras en algunos años las poblaciones fueron máximas en primavera-verano, en otros la tendencia fue a incrementarse en las brotaciones de otoño.

Es de destacar las diferencias encontradas en una misma parcela en las diferentes temporadas. En el cuadro de 'ortanique' de Cerro Chato (Figura 1) sin realizarse ningún tratamiento insecticida en todo el período de estudio, durante la primera temporada la plaga, aunque en bajas poblaciones, se observó desde la primavera hasta el verano. La siguiente temporada mostró disminuciones importantes en la abundancia y en la última no se encontró en ninguno de los muestreos realizados.

Se pudo observar adultos durante el invierno (Figuras 2 y 3), estos provenían de las emergencias de otoño y muchos de ellos se mantuvieron vivos hasta la brotación de la primavera siguiente, donde realizarán la puesta.

El parasitoide identificado fue *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) (Cáceres com. pers., 2008), especie considerada a nivel mundial como una de las más eficientes. Se detectó en la primera temporada a partir de noviembre en algunas parcelas. Los parasitismos fueron en general bajos, alcanzando en algunas fechas y sitios máximos de 50% en verano. Sin embargo, en la siguiente temporada no se observó parasitismo en ninguno de las parcelas. En este último año, fue registrada *T. radiata* solamente en algunas fechas durante el verano, con bajos porcentajes de parasitismo.

El método de monitoreo de adultos mediante el golpeo que se aplicó durante la última temporada, mostró una tendencia similar a las trampas de pegamento amarillas.

Cuadro 1. Comparación entre temporadas de la abundancia de *D. citri* en brotes y en trampas amarillas

		2006-2007			2007-2008		
		Nºde inmaduros/brote*	Li**	Ls**	Nºde inmaduros/brote*	Li	Ls
Quebracho	W. Navel	19,59	11,79	29,38	1,72	0,00	6,28
Cerro Chato	'ortanique'	0,68	0,34	1,14	0		
		Nºde adultos/trampa*	Li	Ls	Nºde adultos/trampa*	Li	Ls
Quebracho	W. Navel	5,00	3,31	7,03	0,21	0,00	0,69
Cerro Chato	'ortanique'	0,05	0,03	0,08	0,01	0,00	0,02

\* Medias anuales \*\*Límites de confianza al 95%

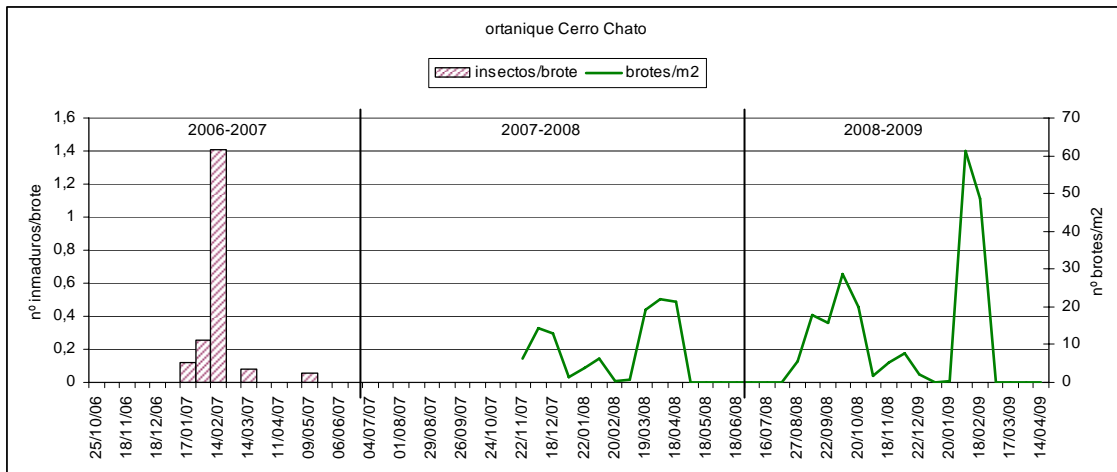
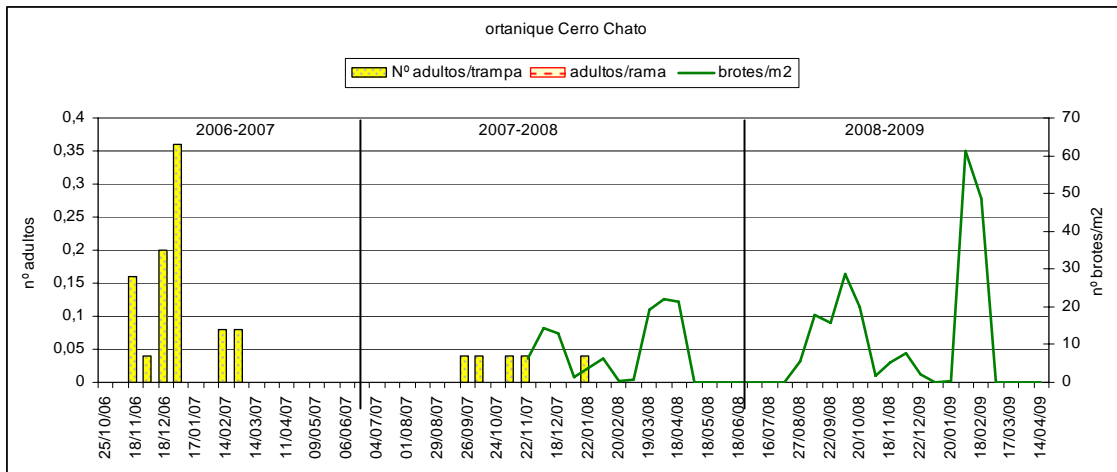
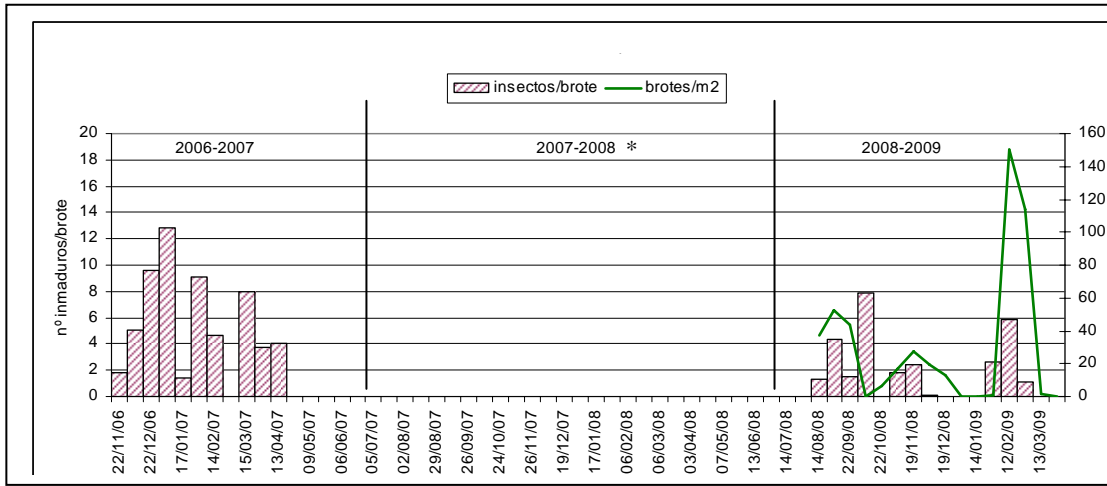
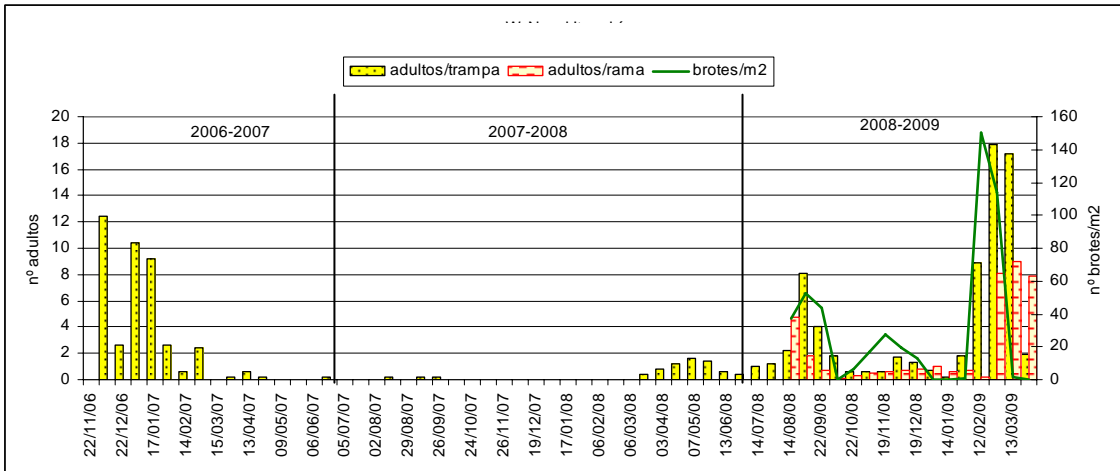


Figura 1. Fluctuación de las poblaciones de *D. citri* durante tres temporadas en una parcela de tanger 'Ortanique' ubicada en Cerro Chato.



\*No se evaluaron los inmaduros en brotes en esta temporada.

Figura 2. Fluctuación de las poblaciones de *D. citri* durante tres temporadas en una parcela de tanger "Ortanique" ubicada en Itapebí

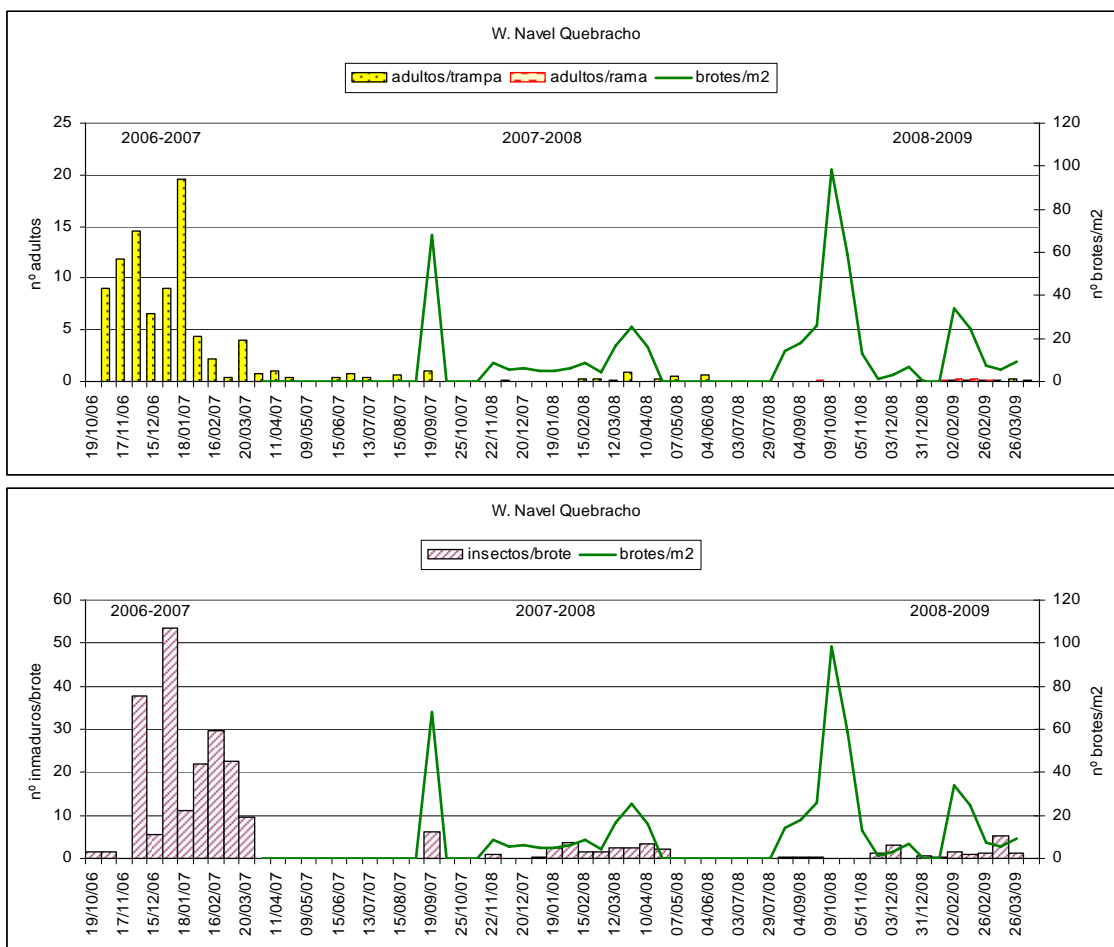


Figura 3. Fluctuación de las poblaciones de *D. citri* durante tres temporadas en una parcela de naranjos W. Navel ubicada en Quebracho.

## Bibliografía

- Aubert, B. 1987. *Trioza erythrae* del Guercio and *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of de citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. *Fruits* 42: 149-162.
- Halbert, S.E. and K.L. Manjunath. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease in citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist* 87: 330-353.
- Hall, D.G. 2006. Biology and ecology of the asian citrus psyllid in Florida. Pag 29. In *Proceedings of the Huanglongbing-greening International workshop*. 16-20 jul, 2006. Ribeirao Preto, SP, Brasil.
- Hall, D.G; m.G. Hentz & R.C. Adair, Jr. 2008. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. *Environ. Entomol.* 37: 914-924.
- Liu, Y.H. and J.H. Tsai. 2000. Effects of temperature on biology and life table parametres of the adian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Ann. Appl. Biol.* 137: 201-206.

- Pluke, R.W.H.; J.A. Qureshi & P.A. Stansley. 2008. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. Florida Entomologist 91: 36-42.
- Tsai, J.H.; J.J. Wang and Y.H., Liu. 2002. Seasonal abundance of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. Florida Entomologist 85: 446-451.
- Yamamoto, P.T.; P.E.B., Paiva and S. Gravena. 2001. Fluctuacao populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) em pomares de citros na regioao norte do estado de Sao Paulo. Neotropical Entomology 30: 165-170.

## 2.4 EVALUACIÓN DE DISTINTAS TÉCNICAS DE MUESTREO PARA ADULTOS Y ESTADOS INMADUROS DE *Diaphorina citri*.

Leticia Rubio<sup>1</sup>, José Buenahora<sup>2</sup>, Soledad Amuedo<sup>3</sup> y Gabriela Asplanato<sup>4</sup>

### Introducción

El objetivo de este trabajo fue evaluar distintos métodos de muestreo. Es imprescindible contar con una técnica de muestreo eficiente y práctica para detectar y monitorear las poblaciones del vector del HLB, y así facilitar posibles medidas de manejo.

La utilización de trampas amarillas es una de las técnicas de muestreo más empleada en distintas regiones del mundo para detectar la presencia de adultos del psílido. Hall et al. (2006) compararon distintos tipos de trampas, así como también diferentes colores. Concluyeron que las trampas amarillas y azules son igualmente efectivas para determinar la presencia de adultos. Las amarillas capturaron un mayor número de ellos, por lo que serían las más apropiadas para tal fin. Sin embargo, Aubert y Xia (1990) mencionan que *D. citri* posee un fuerte fototropismo positivo y reacciona más a superficies luminosas que al color, siendo este un aspecto muy importante a tener en cuenta al momento de ubicar la trampa en el árbol para que el trampeo sea confiable. Generalmente las trampas se ubican a 1,5 m del suelo y hacia los bordes de la copa, próximas a los brotes. De todas maneras, cuando las poblaciones son bajas el incremento del número de trampas por árbol mejora la detección. Si bien esta es una técnica eficiente para evidenciar la presencia de adultos, según Hall (2009) es pobre como estimador de la densidad poblacional debido a la incidencia de ciertos factores (luminosidad, temperatura del aire, viento y lluvia) que interfieren en el nivel de captura.

La inspección visual de ramas tomadas al azar es otro método que puede detectar la presencia de adultos. Además en los momentos de brotación posibilita la detección de todos los estados de *D. citri*. Si predominan brotes tiernos, es un método fácil de implementar, ya que es más sencillo localizar a los adultos y las ninfas se visualizan fácilmente, mientras que en ausencia de brotación es poco preciso, a excepción de que exista un nivel poblacional de adultos medio a alto. Con esta técnica se puede obtener una estimación de la densidad poblacional mediante el conteo de todos los individuos observados en la rama.

El método de golpeo es una técnica fácil de realizar, y da una buena detección de los psílicos (Hall et al., 2006). Además provee información de la presencia y la densidad relativa de adultos en una sola visita al campo, constituyendo esto una ventaja frente al uso de trampas amarillas.

Para la determinar la presencia y la densidad de los estados inmaduros el método que se ha aplicado es el muestro de brotes y el conteo de los diferentes estadios de desarrollo en laboratorio (Sétamou et al., 2008). Aunque es un método eficiente, demanda mucho tiempo en laboratorio cuando las poblaciones son altas. Con este tipo de muestreo se puede determinar la estructura de edades de la población y evaluar factores de mortalidad como la presencia de parasitoides.

<sup>1</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

<sup>2</sup> Ing. Agr. Programa Nacional de Producción Citricola. INIA-Salto Grande

<sup>3</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

<sup>4</sup> Dr. Ing. Agr. Departamento de Protección Vegetal. Facultad de Agronomía



## **Materiales y métodos.**

Se escogió un sitio con un alto nivel poblacional de *D. citri*. Se trabajó en una parcela de tanger 'Ortanique', en la localidad de Colonia Gestido, Salto, en marzo de 2008.

Se seleccionaron 10 árboles, cada uno de ellos fue dividido en cuatro sectores, y mediante sorteo se asignaron los distintos métodos.

Los métodos a evaluar fueron:

- 1- Trampas amarillas con pegamento
- 2- Observación visual de ramas al azar.
- 3-Golpeo de ramas sobre una bandeja: con pegamento o sin pegamento.
- 4- Embolsado de ramas: con insecticida o sin insecticida
- 5- Evaluación de brotes

Se colocó una trampa amarilla por árbol 15 días antes de realizadas las evaluaciones con los otros métodos. Las trampas presentaban una superficie engomada de 11x14 cm. Para la observación visual se tomó al azar una rama de aproximadamente 40cm, en cada uno de los 4 sectores de los 10 árboles. El método de golpeo consistió en golpear ramas sobre bandejas, que contienen placas con o sin pegamento, donde caían los adultos. En el embolsado de ramas se utilizaron bolsas de nylon de 80 a 100 micrones, en algunas se colocó un algodón embebido en insecticida. Luego la rama se sacudió y permaneció unos minutos embolsada. Finalmente se retiró la bolsa, y se contó el número de adultos. Las dos opciones de golpeo de ramas (bandeja con pegamento o sin pegamento) y las dos de embolsado de ramas (con insecticida o sin insecticida) si bien se aplicaron en los 10 árboles, en cada árbol mediante sorteo se asignó una de las opciones a cada cuadrante. Para la evaluación de brotes se colectó al azar un brote por cuadrante, en todos los árboles. Estos se examinaron en laboratorio bajo lupa. En todos los casos se registró la totalidad de los individuos observados.

Los datos se analizaron estadísticamente utilizando el Proc Genmod de SAS. Se utilizó un modelo lineal generalizado, se asumió que la variable presentaba distribución Poisson y la función de enlace fue log.

## **Principales avances y discusión**

Los resultados presentados son preliminares, consideramos que el ensayo debe repetirse en otras condiciones y aumentando el tamaño de muestra. Como se puede observar en el cuadro 1 en aquellos árboles en los que se constató la presencia del vector, los métodos de observación visual, golpeo de ramas y embolsado de ramas fueron efectivos en detectar al insecto. Sin embargo, las trampas amarillas y la evaluación de brotes mostraron baja eficiencia en la detección de la plaga. En algunos árboles donde se detectó la presencia del psílido por otros métodos, las trampas no capturaron a pesar de que se mantuvieron por 15 días. La pobre eficiencia de las trampas podría deberse a que el psílido no fue atraído por el color amarillo, como lo mencionó Aubert y Xia (1990). El insecto puede ser capturado de forma accidental, por factores ambientales principalmente por viento, o debido a la presencia una alta densidad poblacional.

La baja eficiencia mostrada en la evaluación de brotes podría estar explicada por el tamaño de muestra utilizado. Según Sétamou et al. (2008) se deben extraer al menos 8 brotes por árbol.

La técnica de observación visual mostró que es consistente cuando la población es alta, ya que cuando hay pocos individuos podemos pasar por alto su presencia. El embolsado de ramas con insecticida si bien tuvo eficiencia en la detección, es poco

práctico. Coincidiendo con lo expuesto por Hall et al. (2006), el método de golpeo de ramas sobre bandejas con pegamento es una técnica fácil de realizar, se obtiene la información a campo y mostró una eficiencia relativamente buena en la detección de los psílicos.

En la comparación de métodos en cuanto al número de adultos detectado (Cuadro 2) mostró una mayor eficiencia la técnica de embolsado (con y sin insecticida) seguido del golpeo sobre bandeja con pegamento. Como ya dijimos el embolsado no resultó un método práctico, demanda demasiado tiempo en el campo y el conteo de los insectos se dificulta al condensarse la humedad dentro de la bolsa. Las trampas amarillas parecen ser un pobre estimador de la densidad poblacional, coincidente con lo hallado por Hall (2009). Sin embargo en otros trabajos se encontró que tienen valor para la detección de poblaciones (Hall et al., 2008).

Cuadro 1. Media de número de insectos observados en cada árbol por cada método de muestreo.

árbol	OV	GESI	GECI	GPSP	GPCP	TA	B
1	16	0	12	2	4	4	0
2	1	0	0	0	0	0	0
3	10	6	11	1	8	0	9
4	2	1	2	3	2	0	2
5	1	3	1	2	11	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0
10	20	140	60	6	8	18	13

OV: observación visual  
 GESI: embolsado de rama sin insecticida  
 GECI: embolsado de rama con insecticida  
 GPSP: golpeo de rama sobre bandeja sin pegamento  
 GPCP: golpeo de rama sobre bandeja con pegamento  
 TA: trampa amarilla  
 B: brotes

Cuadro 2. Comparación de los métodos de evaluación de adultos

Método	Media del n° de adultos capturados por método	IC 95%	
OV	1,3	0,04	3,75
GESI	14,8	7,91	23,73
GECI	8,5	3,94	14,67
GPSP	1,4	0,07	3,91
GPCP	3,2	0,92	6,91
TA	2,2	0,39	5,21

## Bibliografía

Aubert B. & Y. H. Xia. 1990. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus and Murraya canopies. Rome : FAO, p. 181-187. International FAO-UNDP Conference on

- Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region. 4, 1990-02-04/1990-02-10, Chiang Mai, Thailande.
- Hall, D.G. 2009. An assessment of yellow sticky card traps as indicators of the abundance of adult *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Journal of Economic Entomology* 102: 446-452.
- Hall, D.G.; M. G. Hentz; R. C. Adair Jr. 2008. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida Citrus Groves. *Environmental Entomology* 37(4):914-924.
- Hall, D.G., M.C. Ciomperlik; M.G., Hentz; E. Wenninger. 2006. A comparison of traps and tap sampling for monitoring adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), in citrus. The 54th Annual Meeting of the Entomological Society of America, December 12, 2006, Indianapolis, Indiana. D034.
- Sétamou, M.; D., Flores; J. French & D.G. Hall. 2008. Dispersion patterns and sampling plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Journal of Economic Entomology*. 101:1478-1487.

## 2.5 DISTRIBUCIÓN ESPACIAL DE ESTADOS INMADUROS Y ADULTOS DE *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae)

Soledad Amuedo<sup>1</sup> y Gabriela Asplanato<sup>2</sup>

### Introducción

Existen tres disposiciones básicas que describen la distribución espacial de los insectos: aleatoria, regular y agregada o contagiosa. En la distribución aleatoria dos hipótesis ecológicas son necesarias: todos los puntos en el espacio tienen la misma probabilidad de ser ocupados por un organismo y la presencia de un organismo no afecta a otro. Generalmente este tipo de disposición espacial no ocurre en la naturaleza, debido a que la primera hipótesis implica que todos los puntos tienen condiciones idénticas de hábitat y la segunda que no existe interacción entre individuos. Este tipo de distribución se caracteriza porque la media y varianza calculada a partir de los muestreos es igual. En la distribución regular ocurre una interacción negativa entre los organismos, esto ocurre cuando existe una fuerte competencia entre ellos por un recurso determinado, siendo más común en insectos sociales. Aquí la media de las muestras es mayor a la varianza. Cuando la distribución es agregada el espacio presenta condiciones heterogéneas o discontinuas y la presencia de un individuo interfiere en el comportamiento de otro. En este caso la presencia de un individuo genera una mayor probabilidad de encontrar en las cercanías otros de la misma población, por lo que la media de las muestras tiende a ser menor a la varianza de las mismas (Southwood y Henderson, 2000).

El conocimiento de la distribución espacial de los insectos es importante para entender la biología y ecología de las especies. También es la base para desarrollar planes de muestreo eficientes y confiables, los cuales son necesarios para implementar programas de manejo integrado de plagas (Binns y Nyrop, 1992). Diferentes índices de agregación han sido propuestos para analizar el tipo de distribución espacial. Entre los índices más utilizados se encuentran: relación varianza/media, Morisita, coeficiente de Green, Iwao, exponente  $k$  de la distribución binomial negativa, ley potencial de Taylor, entre otros (Southwood y Henderson, 2000).

La ley potencial de Taylor sugiere que la media y la varianza de una población están relacionadas por una ecuación potencial de la forma siguiente:

$$S^2 = am^b$$

Donde  $a$  y  $b$  son constantes características de la población en cuestión,  $S^2$  es la varianza y  $m$  es la media. El parámetro  $b$  describe el grado de agregación de la población en condiciones ambientales particulares y para un determinado momento, y el  $a$  es un factor que depende del muestreo, sin significado biológico. Según este índice si el valor de  $b$  es menor a uno la distribución es regular, si  $b$  es igual a uno es aleatoria y si  $b$  es mayor a uno es agregada. El procedimiento de prueba de la ley consiste usualmente en el cálculo de la regresión lineal del logaritmo de la varianza como variable dependiente contra el logaritmo de la media como variable independiente, resultando del mismo una expresión lineal en la cual  $a$  representa el intercepto y  $b$  la pendiente (Taylor, 1961).

Hasta el momento existe poca información acerca de la distribución espacial de *Diaphorina citri*. Tsai et al. (2000) estudiando la dispersión espacial del insecto en *Murraya paniculata* encontraron un patrón agregado de distribución en los adultos. Veronezzi (2006) reporta para Brasil que *D. citri* coloniza aleatoriamente las parcelas y, posteriormente, con el aumento de la población, resulta en una distribución agregada.

<sup>1</sup> Ing. Agr. Ayudante de Investigación-FPTA

<sup>2</sup> Dr. Ing. Agr. Departamento de Protección vegetal. Facultad de Agronomía

Más recientemente, Sétamou et al. (2008) reportaron una agregación de la población de inmaduros y adultos, aunque obtuvieron una disminución importante de la agregación desde los estados inmaduros al adulto. Estos autores mencionan que esto puede atribuirse al incremento en la movilidad fundamentalmente. El objetivo de este trabajo fue obtener información sobre la distribución espacial de estados inmaduros y adultos de *D. citri* utilizando la ley potencial de Taylor, como base para el desarrollo de planes de muestreo adecuados.

## Materiales y Métodos

El experimento fue realizado en dos sitios, una parcela de tangor 'Ortanique' localizada en Itapebí, departamento de Salto y una de naranjos W. Navel ubicada en Quebracho, Paysandú.

Los muestreos fueron quincenales, durante noviembre 2006 a junio 2007. En cada parcela se colocaron 5 a 10 trampas de pegamento amarillo. Se contabilizó el número de adultos capturados por trampa. En cada muestreo se seleccionaron al azar 60 brotes por parcela. En laboratorio bajo lupa estereoscópica se contabilizó el número de estados inmaduros (huevos y ninfas) por brote.

Se calcularon las medias y varianzas por fecha de muestreo para los estados inmaduros y los adultos. Posteriormente se calculó el logaritmo de las medias y varianzas halladas. Se graficó el logaritmo de la varianza como variable dependiente (y) y el logaritmo de la media como variable independiente (x). Se hallaron los coeficientes *b* de la ecuación de regresión lineal por parcela y estado de desarrollo.

## Principales avances

Para los adultos no se encontraron diferencias significativas entre las parcelas por lo que se analizaron los datos de los tres sitios conjuntamente. Para los estados inmaduros de *D. citri* se encontraron diferencias significativas entre las parcelas y los estados de desarrollo evaluados (huevos y ninfas), por lo que los datos fueron analizados separadamente.

Para saber si el modelo de regresión utilizado fue apropiado para proveer una adecuada descripción de la relación varianza-media se utilizó el criterio de Downing (1986), que indica que un modelo es adecuado cuando su  $R^2$  es mayor a 0,80 y el error estándar del coeficiente *b* es menor a 0,20.

### *Distribución espacial de adultos*

El coeficiente *a* de la recta de regresión fue significativamente mayor de cero, el coeficiente *b* fue significativamente mayor a uno (Cuadro 1).

Cuadro 1: Valores medios y límites de confianza al 95% de los coeficientes de la regresión log varianza- log media para adultos de *D. citri*.

Coeficiente	Valor medio	Li	Ls
<i>a</i>	<b>1,64</b>	1,39	1,91
<i>b</i>	<b>1,37</b>	1,26	1,49

En la figura 1 se observa la representación gráfica de la relación log varianza- log media para los adultos de *D. citri*. El valor del *b* es 1,37, lo que indica que los adultos tienen una distribución agregada en el cuadro. Este valor es superior al reportado por Tsai et al. (2000) de 1,30 sobre *Murraya paniculata*. El valor del coeficiente calculado en este trabajo

concuera con el publicado por Sétamou et al. (2008) para adultos sobre pomelos y mandarinas.

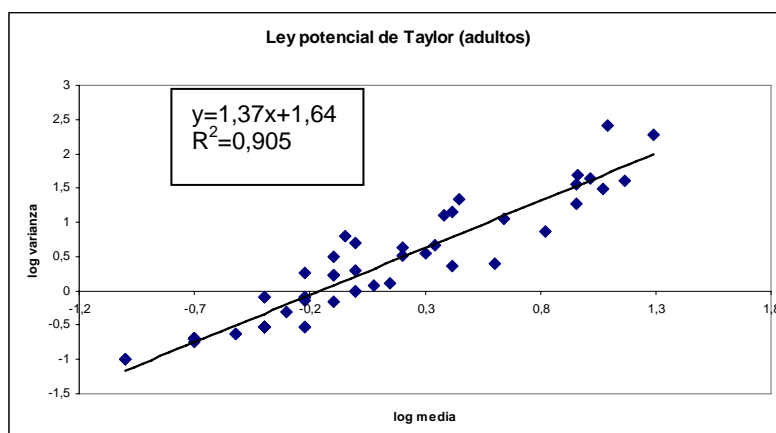


Figura 1: Regresión log varianza-log media para adultos de *D. citri*

El modelo según el criterio de Downing es adecuado para describir la relación entre la varianza y media de los muestreos de adultos, el  $R^2$  fue 0,91 y el error estándar del coeficiente  $b$  fue 0,12.

#### Distribución espacial de estados inmaduros

Para los datos de huevos y ninfas en Quebracho los coeficientes  $a$  fueron significativamente mayor a cero y el  $b$  mayor a uno. Para los datos de Itapebí el coeficiente  $a$  de la regresión fue significativamente mayor de 0 pero los coeficientes  $b$  no fueron significativamente mayores a uno (Cuadro 2).

Cuadro 2: Valores medios, límites de confianza de los coeficientes  $b$  de la Ley potencial de Taylor y  $R^2$  de la regresión, para estados inmaduros de *D. citri*.

Parcela	Estado de desarrollo	$b$	Li	Ls	$R^2$
Quebracho	Huevos	<b>1,47</b>	1,34	1,60	0,97
	Ninfas	<b>1,33</b>	1,21	1,46	0,93
Itapebí	Huevos	<b>1,36</b>	0,85	1,86	0,91
	Ninfas	<b>1,19</b>	0,79	1,59	0,75

La regresión utilizada es adecuada para describir la relación entre las variables (media y varianza) en la parcela de Quebracho ( $R^2 > 0,80$  y error estándar  $< 0,20$  (Cuadro 2).

Nuestros resultados son algo inferiores a las observaciones de Sétamou et al. (2008), estos autores encontraron valores de  $b$  de 1,58 y 1,73 para huevos y ninfas, respectivamente.

Estos resultados indican preliminarmente que todos los estados de desarrollo de *D. citri* podrían tener una distribución agregada. Este comportamiento podría ser atribuido a que los adultos tienen relativa baja movilidad, preferencia por los brotes para alimentarse y ovipositar. Además, las hembras colocan los huevos en grupos sobre brotes nuevos donde las ninfas, poco móviles, se alimentan durante su desarrollo.

## **Bibliografía**

- Binns, M y J. Nyrop. 1992. Sampling insect population for the purpose of IPM decision making. *Annual Review of Entomology*. 37: 427-453.
- Downing, J. A. 1986. Spatial heterogeneity: evolved behavior or mathematical artifact?. *Nature (Lond.)*. 323: 255-257.
- Sétamou, M.; D. Flores; V. French & D. Hall. 2008. Dispersion patterns and sampling plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Citrus. *Journal of Economic Entomology* 101 (4): 1478-1487.
- Southwood, T & P. A. Henderson. 2000. *Ecological methods*. Blackwell, London, United Kingdom.
- Taylor, L. R. 1961. Aggregation, variance and the mean. *Nature (Lond.)*. 189: 732-735.
- Tsai, H; J. Wang & Y. Liu. 2000. Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange jasmine in southern Florida. *Florida Entomologist*. 85: 446-451.
- Veronezzi, F. R. 2006. Distribuição espacial e amostragem de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) na cultura de citros. Tesis de maestría. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil. 50p.