**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Biologia em temperaturas alternantes e exigências térmicas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) visando ao seu zoneamento em regiões citrícolas do estado de São Paulo

Jaci Mendes Vieira

**Tese apresentada para obtenção do título de Doutora
em Ciências. Área de concentração: Entomologia**

**Piracicaba
2016**

Jaci Mendes Vieira
Engenheira Agrônoma

Biologia em temperaturas alternantes e exigências térmicas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) visando ao seu zoneamento em regiões citrícolas do estado de São Paulo

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2016

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Vieira, Jaci Mendes

Biologia em temperaturas alternantes e exigências térmicas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) visando ao seu zoneamento em regiões citrícolas do estado de São Paulo / Jaci Mendes Vieira. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.
78 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. HLB 2. Psílídeo 3. Parasitoides 4. Constante térmica 5. Sistema de alerta I. Título

CDD 632.75
V658b

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Dedico,

À minha família e ao meu esposo que estiveram comigo em todos os momentos, e a minha filha Valentina que está a caminho, mas já é um raio de luz em minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, força divina, geradora de todas as possibilidades, por guiar meus passos e manter-me firme ao meu propósito;

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra pela orientação, oportunidades concedidas, pelo apoio e direcionamentos nos momentos mais difíceis, os quais foram cruciais para conclusão da tese;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos;

Ao FUNDECITRUS pelo apoio financeiro para condução dos experimentos;

Ao Prof. Paulo César Sentelhas, pelo auxílio nos dados climáticos;

À Carolina Reigada e Adriano Garcia pelo auxílio nas análises estatísticas;

À Dr. Ranyse Querino, pela amizade, presteza e colaboração em todos os momentos da minha formação acadêmica;

Ao Waldemar, esposo, amigo, conselheiro e companheiro de todas as horas, por todo carinho, cuidado e amor;

A minha filha Valentina, que está a caminho deste mundo e já participou de forma tão intensa da finalização deste sonho;

Aos meus pais Bertoldo Vieira e Maria do Carmo Mendes, por me darem a vida e ensinar a vivê-la da melhor forma possível, por me ensinarem a nunca desistir dos meus sonhos, independentemente do tamanho que eles fossem.

Aos meus irmãos (as), Nalcy, José, Jane, Jacinta, Telma e Júnior; e cunhados (as), Warlisson, Sabrina, Jânio, Douglas e Bárbara, que sempre estiveram ao meu lado, dando forças para continuar. A torcida de todos foi fundamental para conclusão desta etapa;

Aos meus sobrinhos, Ana Maria, Ana Clara, Arthur, Sarah, Sofia, Giovana, Gabriel, Lavínia e ao meu afilhado Victor, que apesar da pouca idade, me mostram que estamos em constante aprendizado;

À minha família piracicabana, Maria Beatriz, Ieda, Jaça, Alexandre, Horácio, Wálter, Maureen e Victória, pela maravilhosa convivência, apoio, além de alegrarem minha vida em Piracicaba;

Aos amigos da Re-una, pela amizade sincera e pelos valiosos ensinamentos;

Aos amigos Alexandre e Gustavo, pela amizade, por todo apoio dado ao longo do doutorado e pelo valioso auxílio na discussão dos trabalhos;

A equipe da *Diaphorina*; Luan Camargo, Laís Dal Pogeto, Cristiane Ramos, Lucas Lima e a tantos outros que fizeram parte do crescimento e evolução das técnicas de criação desta praga e do seu parasitoide.

Aos amigos, por quem tenho grande admiração: Alexandre de Senne Pinto, Daniela Pinheiro, Amanda Rodrigues, Aloísio Coelho, Aline Bertin, Johana Bajonero e Marisol Giraldo pela convivência, pelo apoio e pelos valiosos conselhos;

A todos do laboratório de Biologia de Insetos pela convivência: Neide Zério, Leandro Delalibera, Aline Rocha, Lucas Cantori, Cristina Jensen, Fernanda Polastre, Guilherme Mazzarin e Lucas Lacerda,

Aos funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia.

“A mente que se abre a uma nova ideia, jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Huanglongbing (“greening”)	17
2.1.1 Aspectos gerais	17
2.1.2 Agentes causais	18
2.1.3 Hospedeiros	19
2.1.4 Medidas de manejo e controle do HLB	19
2.1.5 Vetores do HLB	21
2.1.6 Hospedeiros de <i>D. citri</i>	22
2.2 Bioecologia de <i>D. citri</i>	22
2.2.1 Dispersão de <i>D. citri</i>	24
2.2.2 Transmissão de agentes causadores do HLB	24
2.2.3 Métodos de manejo e controle aplicados ao controle biológico.....	25
2.3 <i>Tamarixia radiata</i>	28
2.3.1 Utilização de <i>T. radiata</i> para controle de <i>D. citri</i> no mundo.....	29
2.4 Zoneamento climático de pragas	33
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Estudos biológicos de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) em temperaturas alternantes	35
3.2 Estudos biológicos de <i>Tamarixia radiata</i> (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) em temperaturas alternantes	36
3.3 Escolha das temperaturas alternantes nos estudos biológicos de <i>D. citri</i> e <i>T. radiata</i> para cinco regiões citrícolas de São Paulo	36
3.4 Cálculo do número de gerações de <i>D. citri</i> e <i>T. radiata</i>	37
3.5 Determinação da contante térmica (K) para <i>D. citri</i> e <i>T. radiata</i> por meio de temperaturas alternantes	38
3.6 Determinação do fator de correção da constante térmica de <i>D. citri</i> e <i>T. radiata</i> para as diferentes estações do ano	38
3.7 Suporte para tomada de decisão referente à liberação de <i>T. radiata</i> no estado de São Paulo com base no sistema de alerta de <i>D. citri</i> desenvolvido pelo FUNDECITRUS, levando-se em consideração as exigências térmicas de <i>D. citri</i>	39
3.8 Análises estatísticas	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
4.1 Duração média do desenvolvimento biológico de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) em temperaturas alternantes	43

4.1.1 Período embrionário.....	43
4.1.2 Período ninfal.....	43
4.1.3 Período de pré-oviposição.....	44
4.1.4 Duração do ciclo total (ovo-adulto+ período de pré-oviposição)	46
4.3 Cálculo do número de gerações de <i>D. citri</i> e <i>T. radiata</i>	48
4.4 Constante térmica (K) para <i>D. citri</i> e <i>T. radiata</i> por meio de temperaturas alternantes.....	55
4.5 Suporte para tomada de decisão referente à liberação de <i>T. radiata</i> no estado de São Paulo com base no sistema de alerta de <i>D. citri</i> desenvolvido pelo FUNDECITRUS, levando-se em consideração as exigências térmicas de <i>D. citri</i>	58
5 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS	65

RESUMO

Biologia em temperaturas alternantes e exigências térmicas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) visando ao seu zoneamento em regiões citrícolas do estado de São Paulo

A pesquisa teve por objetivo determinar o desenvolvimento, o número de gerações e a constante térmica de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), sob 20 combinações de temperaturas alternantes que simulam as condições de Limeira, Tatuí, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo e Votuporanga, áreas citrícolas do estado de São Paulo, nas quatro estações do ano. Paralelamente, discutem-se as estimativas dos períodos de liberação do parasitoide associados ao alerta fitossanitário desenvolvido pelo FUNDECITRUS. Foi estudado o desenvolvimento de *D. citri* e *T. radiata*, sendo registrado o tempo necessário para completarem o ciclo biológico. A partir destes dados, foi calculada a constante térmica e o número de gerações da praga e do parasitoide para cada uma das condições propostas. Com base na duração do desenvolvimento de *D. citri*, foi definido o momento ideal para liberação de *T. radiata* em campo. Os resultados da determinação do número de gerações de *D. citri* e de *T. radiata*, baseando-se em temperaturas alternantes, foram comparáveis ao modelo desenvolvido em temperaturas constantes, sendo que as variações existentes entre os dois modelos se deveram à inclusão do período de pré-oviposição que foi variável em função da temperatura. A previsão do número de gerações se ajustou mais a *T. radiata* do que a *D. citri*, sendo propostos fatores de correção para casos em que a constante térmica observada superou 10-15% do valor determinado em laboratório. Observou-se que uma geração de *D. citri* variou de 22,9 a 74,2 dias, no verão e inverno para as simulações de Votuporanga e Tatuí, respectivamente; por outro lado, nas mesmas condições, uma geração de *T. radiata* pode variar de 9,8 a 21,6 dias. A relação entre o número de gerações de *D. citri*: *T. radiata* no decorrer do ano é superior a 1:2, sendo de 1: 2,58; 1: 2,47; 1: 2,28; 1: 2,28; 1: 2,34, respectivamente, para as simulações de Limeira, Tatuí, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo e Votuporanga. A regressão linear mostrou que o número de gerações de *D. citri* é melhor explicado pela média das temperaturas diurna e noturna, enquanto que para *T. radiata*, apenas pela temperatura diurna. Os valores extremos de dias para liberação de *T. radiata* após o alerta fitossanitário, correspondem às regiões de Avaré e Bebedouro. Os resultados indicam que há uma variação no desenvolvimento da praga e do seu parasitoide entre as regiões e que há necessidade de validação em campo; no entanto, se confirmados, permitirão o uso mais eficiente do parasitoide *T. radiata*, se tornando um componente auxiliar ao sistema de alerta e ao Manejo Integrado dessa importante doença, o HLB.

Palavras-chave: HLB; Psílideo; Parasitoides; Constante térmica; Sistema de alerta

ABSTRACT

Biology in alternating temperatures and thermal requirements of *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) and *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), aimed its zoning in citrus-growing areas of São Paulo

This study determined the development, number of generations and thermal constant of the HLB vector *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) and the parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) under 20 combinations of alternating temperatures that simulated the conditions of five citrus-growing areas of São Paulo state (Limeira, Tatuí, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo and Votuporanga) in the four seasons. The estimated optimum release time of the parasitoid is discussed in relation to a phytosanitation alert developed by FUNDECITRUS. The development time and time needed to complete the life cycles of *D. citri* and *T. radiata* were assessed. The thermal constant and number of generations of the pest and parasitoid for each temperature condition were calculated based on these data. Based on the development time of *D. citri*, the optimum time to release *T. radiata* in the field was established. The estimated number of generations of *D. citri* and *T. radiata* in alternating temperatures was comparable to the model developed at constant temperatures; the differences between the two models were due to the inclusion of the pre-oviposition period, which varied as a function of temperature. The estimated number of generations was larger for *T. radiata* than *D. citri*, and correction factors were proposed for those cases in which the observed thermal constant exceeded 10-15% of the value determined in the laboratory. Generation times of *D. citri* ranged from 22.9 days in summer to 74.2 days in winter for the simulations for Votuporanga and Tatuí. Under the same conditions, one generation of *T. radiata* may range from 9.8 to 21.6 days. The ratio between the annual number of generations of *D. citri*: *T. radiata* was higher than 1: 2, ranging from 1: 2.58; 1: 2.47; 1: 2.28; 1: 2.28; 1: 2.34 for the simulations for Limeira, Tatuí, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo and Votuporanga, respectively. Linear regression analysis showed that the number of generations of *D. citri* is best explained by the mean diurnal and nocturnal temperatures, whereas for *T. radiata*, only by the mean diurnal temperature. The extreme values for optimum release day of *T. radiata* after a phytosanitation alert were found for Avare and Bebedouro. The results indicate that the development of the pest and its parasitoid differ among areas, and there is need for validation in the field. However, if confirmed, these data will allow more efficient use of the parasitoid *T. radiata* as a complementary component of the alert system and of Integrated Management of HLB.

Keywords: HLB; Psyllid; Parasitoids; Thermal constant; Alert system

1 INTRODUÇÃO

Desde que detectado no Brasil em 2004, o greening ou Huanglongbing (HLB) é referido como a pior doença que acomete a citricultura (COLETTA-FILHO et al., 2004).

O HLB está associado, principalmente, a bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter*, sendo atribuído também a alguns outros micro-organismos (TEIXEIRA et al., 2008). Sua transmissão ocorre principalmente por ação de dois psíldeos vetores: *Trioza erytrae* (Del Guercio) (Hemiptera: Triozidae) e *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) (GRAÇA, 1991). No Brasil, o HLB é transmitido pela espécie *D. citri* (YAMAMOTO et al., 2006).

Como não existem, ainda, medidas curativas para a doença, seu manejo se baseia principalmente no controle do vetor. O parasitoide, *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), foi utilizado com sucesso nas ilhas Reunión e Guadeloupe (ETIENNE et al., 2001), EUA (HALL et al., 2013) e Brasil (PARRA et al., 2016).

O sucesso de programas de controle biológico depende de uma série de fatores que afetam a eficiência dos inimigos naturais em campo e cujos parâmetros podem ser estimados em condições de laboratório (BIGLER, 1986). Considerando que não foram identificados hospedeiros alternativos para *T. radiata*, há necessidade de se conhecer os fatores que afetam o desenvolvimento tanto do parasitoide, quanto da praga.

Dentre os fatores físicos, o mais importante é a temperatura, pois afeta características biológicas como duração do período de desenvolvimento, taxa de emergência, fecundidade, reprodução e longevidade dos insetos (STERN; BOWEN, 1963; BUTTLER JÚNIOR et al., 1985; NOLDUS, 1989; FLETCHER, 1989). Algumas vezes estes resultados não podem ser extrapolados para condições variáveis de campo.

Estudos biológicos de *D. citri*, foram realizados em temperaturas constantes, sendo as temperaturas de 25 e 28 °C as mais adequadas ao desenvolvimento do psíldeo (NAVA et al., 2007; NAKATA, 2006; LIU; TSAI, 2000).

Em levantamentos realizados, foi observado que o aumento populacional de *D. citri* ocorre no final da primavera e se estende durante o verão, período em que se têm temperaturas amenas a quentes, umidade relativa alta e, principalmente, fluxos vegetativos intensos. No período seco e frio (inverno) a população é baixa em relação ao período chuvoso (primavera/verão) (YAMAMOTO et al., 2001; COSTA et al., 2006).

Para *T. radiata*, foram observadas variações de parasitismo dependendo da região do estado de São Paulo em que foi realizada a liberação do parasitoide (DINIZ, 2013) e tais

variações podem ser decorrentes das condições ambientais do local, afetando aspectos biológicos do inimigo natural.

Gómez-Torres et al. (2012) realizaram estudos da biologia de *T. radiata* em diferentes temperaturas e elaboraram a tabela de vida de fertilidade, e consideraram a temperatura de 25 °C como a mais adequada ao desenvolvimento do inseto por promover uma taxa líquida de reprodução (R_0) de 126,79. As maiores taxas de parasitismo foram obtidas na faixa de 25 a 30 °C, e de emergência na faixa de 25 a 35 °C.

O efeito de temperaturas alternantes sobre o desenvolvimento e biologia de *D. citri* e *T. radiata*, por outro lado nunca foi avaliado. Estas informações podem explicar variações observadas em campo, tanto da praga, quanto do inimigo natural.

Com vistas à tomada de decisão para medidas de controle, o Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) criou o Alerta Fitossanitário, que consiste de um programa que auxilia os citricultores no manejo regional do HLB, determinando por meio do monitoramento da população do psilídeo e da presença de brotações de *Citrus* nas propriedades, o momento adequado para tomada decisão para controle, de forma conjunta, permitindo assim, a utilização racional de produtos químicos e a redução da disseminação na doença no campo, informações estas que poderão ser utilizadas para indicação do momento de liberação do parasitoide (FUNDECITRUS, 2016).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi determinar a duração do período de desenvolvimento, o número de gerações e a constante térmica para *D. citri* e *T. radiata* com base em cinco simulações de temperaturas alternantes para as quatro estações do ano, em relação a estudos realizados com temperaturas constantes; bem como utilização destes resultados para estimativa do período mais adequado para liberação do parasitoide de acordo com parâmetros do sistema de alerta fitossanitário.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Huanglongbing (“greening”)

2.1.1 Aspectos gerais

Huanglongbing (HLB) é a doença mais prejudicial à citricultura e vem devastando pomares no mundo todo. Em São Paulo, estado com maior produção de citros do Brasil, foram erradicadas, no primeiro semestre de 2015, cerca de dois milhões de plantas infectadas como medida legislativa de controle e desde 2004 quando foi detectada, já se somam mais de 38 milhões de erradicações (CDA, 2016).

Os custos para manejo da doença, incluindo inspeções e aplicação de inseticidas para controle do vetor, variam de 12,65 a 38,73% do custo total de produção da laranja por hectare (BELASQUE JR et al., 2010).

Na Flórida, EUA, o primeiro caso da doença foi detectado em 2005 (HALBERT, 2005) e, desde então, ocorreu uma inviabilização de cerca de 10% da área produtora, o que representa a perda de mais de 8200 empregos e cerca de 2,7 bilhões de dólares em arrecadação (HODDLE, 2012).

Os sintomas iniciais da doença são caracterizados pela presença de um ou poucos ramos com folhas amareladas, podendo ocorrer um mosqueado, que é irregular entre os lados separados pela nervura central, e pode ocorrer ainda clorose internerval. Com o progresso da doença, pode ocorrer desfolha das partes afetadas e morte do ponteiro (KIMATI et al., 2005; BOVÉ, 2006).

Estes sintomas devem-se à reação da planta à infecção pela bactéria, que provoca a deposição de calose nos plasmodesmos e elementos do tubo crivado obstruindo-os. Deste modo, o transporte de fotoassimilados para as diversas partes da planta é comprometido (GONZALES; REYES-DE-CORCUERA; ETXEBERRIA, 2012; KOH et al., 2012). As plantas infectadas também apresentam frutos menores, deformados, com coloração desigual e maturação irregular; além disso, ocorre ainda aborto de sementes e vasos com aspecto alaranjado (ROSALES; BURNS, 2011; BELASQUE et al., 2009). Tais sintomas são atribuídos à alteração na concentração e distribuição dos principais fitohormônios responsáveis pela maturação dos frutos, causada pela presença da bactéria.

Plantas novas e contaminadas não chegam a produzir frutos. Plantas adultas tornam-se improdutivas em dois a cinco anos após a infecção, seus frutos apresentam menor teor de

sólidos solúveis e maior acidez, o que compromete o rendimento do suco na industrialização (FUNDECITRUS, 2016).

A infecção com HLB promove ainda variações nas características organolépticas do suco de algumas variedades, que pode não ser relevante para a indústria, mas é fundamental para frutos destinados ao consumo in natura (PLOTTO et al., 2010).

2.1.2 Agentes Causais

De acordo com Graça (1991) o HLB está presente na Índia desde o século XVIII e até a década de 1970 postulava-se que o agente causal fosse o vírus da tristeza dos citros, pelo fato de ser transmitido via enxerto; entretanto, esta hipótese não foi validada.

As bactérias às quais o HLB é associado pertencem a três espécies de procariotos Gram negativos de colonização restrita ao floema das plantas, denominados *Candidatus Liberibacter*. O termo *Candidatus* foi atribuído, já que não foram ainda cultivadas em meio de cultura (GARNIER et al., 1984; SECHLER et al., 2009).

Cada espécie de bactéria descrita recebeu o nome em função dos continentes nos quais foi encontrada pela primeira vez. Assim, são conhecidas *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. Liberibacter africanus* e *Ca. Liberibacter americanus* (JAGOEIX et al., 1994; GARNIER et al., 2000; TEIXEIRA et al., 2005).

Em 2007, plantas sintomáticas e negativas para as três espécies de *Ca. Liberibacter*, foram submetidas a análises moleculares, utilizando-se à região do 16 S rDNA, e detectou-se um fitoplasma como novo agente associado ao HLB (TEIXEIRA et al., 2008).

A bactéria *Ca. Liberibacter asiaticus* está presente na Ásia, no Brasil, nos EUA e Cuba. Por outro lado, *Ca. Liberibacter africanus*, está restrito à África, enquanto *Ca. Liberibacter americanus* e o fitoplasma são encontrados somente no Brasil (MARTÍNEZ et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2008).

Ca. Liberibacter africanus é sensível a temperaturas superiores a 25 °C (BOVÉ, 2006). Em temperaturas mais amenas, os sintomas tornam-se mais evidentes, o que explicaria o fato do HLB africano ocorrer em pomares situados em altitudes superiores a 700 m (GOTTWALD et al., 2007).

Para as espécies que ocorrem no Brasil, Lopes et al. (2009) verificaram que na faixa de 22 a 24°C todas as plantas infectadas com as duas espécies da bactéria apresentaram sintomas de mosqueamento; entretanto, entre 27 e 32 °C nenhuma planta infectada por *Ca. Liberibacter americanus* apresentou sintomas. Tal fato foi também confirmado por Gasparoto

et al. (2012), sob condições experimentais; em plantas inoculadas com *Ca. Liberibacter americanus* e mantidas em temperaturas variando de 27 a 30 °C, não foi verificada a evolução da doença, porém, naquelas que receberam *Ca. Liberibacter asiaticus*, a infecção das plantas foi total ao fim de dois meses.

2.1.3 Hospedeiros

O HLB já foi detectado em espécies da família Rutaceae, principalmente aquelas do gênero *Citrus* e espécies relacionadas (HALBERT; MANJUNATH, 2004).

Plantas do gênero *Murraya* também são hospedeiras de *Ca. Liberibacter asiaticus*, podendo a bactéria ser transmitida às plantas de citros, por meio do inseto vetor (DAMSTEEGT et al., 2010). Gasparoto et al. (2010) confirmaram a transmissão de *Ca. Liberibacter americanus* de plantas de murta para laranja doce, por meio de um inseto vetor.

Murraya paniculata (L.) Jacq. 1820, também conhecida como murta-de-cheiro ou falsa murta, é a planta ornamental mais difundida no Brasil e no mundo, sendo muito utilizada como cerca viva em áreas urbanas e até mesmo, próximas a pomares. Devido à sua grande distribuição, a eliminação de plantas de murta foi sugerida como medida de controle da doença (BELASQUE Jr et al., 2009).

Em amostragem no estado de São Paulo verificou-se que cerca de 12 % das plantas de murta estavam infectadas com HLB. No primeiro ano de estudo, *Ca. Liberibacter americanus* foi encontrada em maior porcentagem; no entanto, no segundo ano, houve maior incidência de *Ca. Liberibacter asiaticus*. Um estudo semelhante foi conduzido na Flórida, EUA e foi registrado um percentual de apenas 1,8 % de *Ca. Liberibacter asiaticus* em murta (WALTER; HALL; DUAN, 2012). No entanto, apesar de baixa incidência, estas plantas não podem ser ignoradas, uma vez que de acordo com Aubert (1987) a espécie *M. paniculata* é hospedeiro preferencial do inseto vetor.

2.1.4 Medidas de manejo e controle do HLB

Como não existem métodos curativos para o HLB, a prevenção da infecção das plantas é fundamental no controle da doença. Inicialmente tentou-se o emprego de antibióticos (tetraciclina); no entanto, sem resultados favoráveis, pois quando o tratamento é interrompido, os sintomas reaparecem (BOVÉ, 2006). Outra medida empregada, mas também sem sucesso, foi a poda de ramos sintomáticos e assintomáticos (LOPES et al., 2007).

Atualmente o controle é baseado em três estratégias fundamentais, sendo elas: a utilização de mudas sadias, que é garantida por meio de medidas legais pela exigência de produção sob viveiros telados; o controle do vetor com uso de métodos químicos e/ou biológicos e a eliminação de plantas doentes dos pomares comerciais (KIMATI et al., 2005; PARRA et al., 2016).

De acordo com Belasque Jr. et al. (2009), medidas adicionais também devem ser empregadas, sempre que possível, como a eliminação das plantas de *M. paniculata*, independentemente de sua localização; no entanto, segundo os autores, essas medidas demandam tempo, recursos humanos e financeiros e também a coordenação dos vários agentes envolvidos na cadeia produtiva de citros.

Atualmente, grandes grupos produtores de citros no Brasil têm feito o trabalho de erradicação de plantas de murta e citros presentes em áreas externas aos seus pomares, visando à redução da taxa do HLB dentro de suas propriedades, uma vez que foi verificado que a contaminação dos pomares é basicamente primária, por meio da migração do psilídeo que voa aproximadamente 2,0 km provenientes de regiões adjacentes e contaminadas (FERREIRA, 2014).

Ainda não são conhecidos materiais resistentes ao HLB. No entanto, alguns trabalhos identificam alguns materiais do gênero *Citrus*, como limões, cidra e porta enxerto do gênero *Poncirus*, como tolerantes à doença (FOLIMONOVA et al., 2009; ALBRECHT; BOWMAN, 2011; ALBRECHT; BOWMAN, 2012).

Há necessidade de inspeção periódica dos pomares, no máximo a cada 2 a 4 meses, para detecção e eliminação imediata de plantas com sintomas. Dados experimentais obtidos na comparação de equipes de inspetores, caminhando ao lado das plantas ou em plataformas acopladas a tratores, mostraram que quatro inspetores por plataforma, promovem maior eficiência na detecção de plantas sintomáticas em pomares infestados (BELASQUE Jr. et al., 2010). Quando verificado que 28% de plantas de um talhão estejam sintomáticas, estima-se que 100% das plantas já estejam infectadas, embora ainda sem apresentar sintomas (BELASQUE Jr. et al., 2009). Com base nestes resultados, foi criada a instrução normativa 53 que determina a eliminação completa de um talhão quando este apresentar 28% de plantas com sintomas da doença.

O controle bem sucedido do HLB pode ser alcançado por meio de diferentes níveis de manejo, em função de algumas características da área produtora. A incidência da doença na região, a taxa de infecção inicial, distância de áreas não manejadas, tamanho da fazenda e idade do pomar, são aspectos fundamentais que irão determinar o nível de manejo a ser

adotado, o que implica diretamente no custo do controle da doença (BELASQUE JR et al., 2010). Segundo Leal et al. (2010), inspeções trimestrais não são suficientes para monitorar a doença e consequentemente, alcançar um controle satisfatório.

O diagnóstico precoce de plantas infectadas com HLB poderá garantir o sucesso na redução da infecção da doença, já que os primeiros sintomas podem aparecer somente seis meses após a infecção. Utilizando apenas a diagnose visual, o erro pode ser superior a 30% (BELASQUE JR et al., 2009). Diante disso, alguns trabalhos empregando sensores ópticos vêm sendo conduzidos com o intuito de acelerar esta diagnose e fornecer maior confiabilidade aos resultados (PEREIRA et al., 2011; SANKARAN et al., 2011).

2.1.5 Vetores do HLB

Os patógenos associados ao HLB podem ser transmitidos, por meio de enxertia com material contaminado e por meio de dois insetos vetores, *Trioza erytrae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Triozidae) e *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) (GRAÇA, 1991); a transmissão via sementes não foi observada no trabalho de Hartung et al. (2010), no qual os autores avaliaram mudas provenientes de sementes de frutos sintomáticos.

Cen et al. (2012), detectaram *Ca. Liberibacter asiaticus* em ninfas do psíldeo *Cacopsylla (Psylla) citrisuga* Yang & Li, 1984 (Hemiptera: Psyllidae) que se alimentaram de plantas de *Citrus limon*, infectadas pela doença na China; apesar de ser considerado hospedeiro da bactéria, sua capacidade de transmiti-la não foi verificada.

Lopes et al. (2008) testaram a eficiência de transmissão das duas espécies de *Liberibacter* presentes no Brasil. Os autores observaram que a taxa de transmissão para *Ca. Liberibacter asiaticus* variou de 54,7% até 88%, e para *Ca. Liberibacter americanus* foi de 10% até 45,2%.

T. erytrae é responsável pela transmissão da bactéria no continente africano e Oriente Médio, enquanto *D. citri* nas demais regiões afetadas pela doença ao redor do mundo (HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006). Acredita-se que *D. citri* seja mais adaptado a regiões de clima quente e *T. erytrae* a regiões de clima mais ameno (GOTTWALD et al., 2007).

2.1.6 Hospedeiros de *D. citri*

São conhecidos 25 gêneros da família Rutaceae (principalmente *Citropsis*, *Citrus* e *Murraya*) como hospedeiros do psíldeo, embora nem todos permitam o completo desenvolvimento de *D. citri* (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Dentre os hospedeiros do gênero *Murraya*, *M. paniculata* é a espécie tida como hospedeiro preferencial de *D. citri*, já que permite melhor desenvolvimento biológico quando comparada a outras espécies (LIU; TSAI, 2000; NAVA et al., 2007; IKEDA; ASHIHARA, 2008).

Westbrook et al. (2011), testaram diferentes materiais vegetais diretamente relacionados a citros e apenas *Casimiroa edulis* Llave; Lex, 1825 foi inadequada para todas os estágios de desenvolvimento de *D. citri*, enquanto que *Poncirus trifoliata* L. 1763 apresentou uma inadequação mediana ao desenvolvimento do inseto.

Também foi conduzido um estudo avaliando o desenvolvimento de *D. citri* em cinco variedades de *Citrus* (Hamlin, Natal, Pêra, Ponkan e Valência) além de *M. paniculata*, sendo observado que Hamlin foi o hospedeiro menos adequado ao desenvolvimento do inseto (ALVES et al., 2014).

2.2 Bioecologia de *D. citri*

Dentre os vetores das bactérias associadas ao HLB, *D. citri* é considerado o mais importante devido à sua ampla distribuição e características biológicas. Anteriormente, este inseto pertencia à família Psyllidae, no entanto, após estudos sistemáticos, foi transferido para a família Liviidae (BURCKHARDT; OUVARD, 2012).

Este inseto é nativo do sudeste asiático e atualmente encontra-se distribuído em vários países da Ásia tropical e subtropical, Oceania, e alguns países do Oriente médio (GRAFTON-CARDWELL; STELINSKI; STANSLY, 2013). No continente americano, o primeiro registro ocorreu no Brasil em 1942 (COSTA LIMA, 1942). O registro seguinte ocorreu 55 anos depois na Argentina e a partir daí por todo Caribe, sendo encontrado na Flórida em 1998 e no Texas em 2001 (PARRA et al., 2010).

Ao longo de mais de 70 anos, esta praga, anteriormente tida como secundária, recebeu pouca atenção provavelmente devido à ausência do HLB no continente, pois a doença só foi detectada em 2004 no Brasil e em 2005 nos EUA (BOVÉ, 2006).

Os adultos de *D. citri* medem aproximadamente 2,8 a 3,2 mm de comprimento, e quando jovens apresentam coloração marrom claro, tornando-se escuros com o passar do

tempo. Os adultos são pouco ativos, o que facilita a sua manipulação em condições de laboratório, porém quando perturbados movimentam-se rapidamente, saltando (GALLO et al., 2002). Os psílídeos se alimentam preferencialmente em brotações (AUBERT, 1987) com maior frequência daquelas levemente expandidas (DINIZ, 2013), no entanto são ainda capazes de se alimentar de folhas maduras, na ausência daquelas mais tenras.

Os ovos de coloração amarela são depositados preferencialmente nas gemas recém-brotadas, sendo este um fator preponderante para o incremento populacional de *D. citri*. Pande (1971) encontrou valores de oviposição de *D. citri* variando de 180 a 520 ovos e mais de 60% desses ovos foram colocados em gemas foliares ou brotações que ainda não tinham expandido-se por completo.

O psílídeo prefere ovipositar em brotações com comprimento médio de 1,0 e 2,6 cm, em plantas de citros e murta (TECK et al., 2011; DINIZ, 2013). A relação do psílídeo com brotações novas foi também observada por Yamamoto; Paiva e Gravena (2001), nos pomares cítricos do estado de São Paulo. Os autores atribuíram surtos populacionais de *D. citri* à disponibilidade de ramos novos para alimentação e oviposição. Este fato se deve à busca por locais mais protegidos da dessecação (DINIZ, 2013). *D. citri*, assim como outras espécies da superfamília Psylloidea, apresenta um pedicelo nos ovos, o qual é inserido no tecido foliar com objetivo principal de absorver água para manutenção do equilíbrio embrionário (TAYLOR, 1992). Paiva e Parra (2012) concluíram que os fatores que mais reduzem a população de *D. citri*, em condições de campo, são a mortalidade de ovos e ninfas de primeiro ínstar.

No estudo feito por Nava et al. (2007) em murta, os autores encontraram uma média de 348,4 ovos por fêmea, porém estes valores estão bem abaixo do resultado obtido por Liu e Tsai (2000) para esta mesma planta, que foi de 626 ovos. Segundo Yang et al. (2006) a oviposição pode chegar a 1900 ovos.

Outro fator que pode incrementar o número de ovos é a ocorrência de acasalamentos múltiplos, que apesar de aumentar tal número, gera um custo, por reduzir a longevidade do psílídeo (WENNINGER; HALL, 2008).

Dos ovos do psílídeo, eclodem as ninfas que se desenvolvem de forma sincronizada com o crescimento dos ramos. Estas ninfas possuem coloração amarelada e passam por cinco ínstaes que variam de 0,25 a 1,5 mm (PANDE, 1971) e podem facilmente serem localizadas pela deposição de *honeydew* (GALLO et al., 2002). Tais formas jovens são praticamente imóveis, e permanecem aderidas a tecidos novos como folhas e brotações que são mais tenros e fáceis de serem sugados.

A duração da fase ninfal de *D. citri* varia de 10,6 a 39,6 dias e o ciclo biológico de 14,4 a 49,3 dias de acordo com a temperatura em uma faixa de 28 a 15 °C, sendo as temperaturas de 25° e 28°C as mais adequadas ao desenvolvimento do psíldeo. A 25 °C a fase ninfal apresentou um desenvolvimento de pouco mais de 14 dias, independente do hospedeiro testado (NAVA et al., 2007). Nas temperaturas de 10 e 33 °C não foi verificado o desenvolvimento do inseto (LIU; TSAI, 2000).

2.2.1 Dispersão de *D.citri*

A dispersão de *D. citri* ocorre 4-5 dias após a sua emergência e é estimulada pela presença de ramos novos, sendo que, o psíldeo não seleciona hospedeiros a longas distâncias, e esta movimentação ocorre ao acaso (KOBORI; NAKATA E OHTO, 2011).

A capacidade de dispersão de *D. citri* é considerada baixa. Kobori et al. (2010) verificaram em condições experimentais, que a liberação de 10.000 indivíduos promove migração a uma distância média de 5 a 6 metros do ponto de origem. Já quando 1.000 insetos são liberados, esta distância foi de 5 a 12 metros, não havendo diferença na migração de machos e fêmeas (HALL; HENTZ, 2011). Os autores concluíram que o psíldeo se move pouco e a sua dispersão seria, em grande parte devida à ação do vento. Sob condições naturais, por outro lado, foi verificado que o psíldeo pode dispersar de 1,6 a 2,0 km (FERREIRA, 2014; LEWIS-ROSEMBLUM et al., 2015).

A luz também é um fator que pode influenciar a capacidade migratória de *D. citri*. Sétamou et al. (2012) verificaram que a captura de insetos em armadilhas adesivas durante o dia é cerca de 3 a 4 vezes maior que à noite, e que isto também varia ao longo do dia, sendo o pico registrado entre 12:00 e 15:00 horas, ou seja, o período que corresponde à maior radiação solar.

Outra forma de dispersão de *D. citri*, ocorre por meio das atividades humanas, como por exemplo, por meio de caminhões carregados conduzindo frutas do campo para a indústria de processamento (HALBERT et al., 2010), uma vez que o psíldeo pode sobreviver em folhas e frutos destacados por até 13 dias a 25 °C (HALL; MCCOLLUM, 2011).

2.2.2 Transmissão de agentes causadores do HLB

Em condições ótimas de temperatura e umidade relativa que favorecem o seu crescimento populacional, *D. citri* pode causar danos diretos, como deformações de folhas

jovens e seca de brotações (HALBERT; MANJUNATH, 2004; MICHAUD, 2004; KIMATI et al., 2005). Em se tratando de danos verificados sob altas populações, Michaud (2004) observou deformações foliares irreversíveis quando uma única ninfa se alimentou por 24 horas. No entanto, os maiores danos são causados à cultura do citros quando *D. citri* está associado às bactérias responsáveis pelo HLB.

Um inseto adulto e isento da bactéria pode adquirir o patógeno em 30 minutos ao se alimentar de plantas infectadas. O período de latência dura cerca de 20 dias, no qual ocorrem multiplicação e difusão da bactéria pelos tecidos do inseto, até que ela atinja o canal salivar (ROGERS; STANSLY, 2014).

A aquisição da bactéria ocorre em ninfas a partir do 2º ínstar; no entanto, apenas ninfas de 4º e 5º ínstaes e adultos podem transmiti-la. A transmissão pode ocorrer com apenas 15 minutos de alimentação, com uma baixa infectividade. No entanto, quando se alimenta por uma hora ou mais, a taxa de infecção pode chegar a 100% (MEAD; FASULO, 2011).

De acordo com Inoue et al. (2009), quando a aquisição ocorre na fase adulta não ocorre aumento da concentração da bactéria no corpo do inseto, e neste caso os adultos não são capazes de transmiti-la às mudas de citros. Em contrapartida, quando a aquisição ocorre na fase ninfal, a concentração aumenta em até 360 vezes, chegando à fase adulta com uma capacidade de transmissão de mais de 60%.

A maior eficiência de aquisição por parte da fase imatura de *D. citri* também foi confirmada por Pelz-Stelinski et al. (2010). Os autores verificaram que a taxa de aquisição das ninfas foi de 60 a 100%, enquanto a dos adultos foi de apenas 40%. A transmissão transovariana, embora muito baixa, cerca de 2 a 6%, também foi confirmada.

Em estudo realizado por Cen et al. (2012) foi observado que com o aumento da severidade dos sintomas do HLB, ocorre uma redução no tempo de alimentação. Os autores acreditam que a progressão da doença causa alterações no floema tornando-o menos adequado para os insetos. Por outro lado, Noronha (2010), em testes conduzidos em olfatômetro, observou preferência de machos e fêmeas de *D. citri* (64 e 79%, respectivamente) por plantas infectadas com HLB.

2.2.3 Métodos de manejo e controle aplicados ao controle biológico

Atualmente, a principal forma de controle de *D. citri* é por meio da utilização de inseticidas químicos. No Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) são

registrados 30 produtos, sendo mais da metade deles classificados como extremamente ou altamente tóxicos. Apenas *Beauveria bassiana* é registrada como produto biológico para controle do psilídeo (AGROFIT, 2016).

O pequeno número de produtos registrados, aliado ao grande número de aplicações de inseticidas é bastante preocupante, pois pode levar a uma rápida seleção de populações resistentes do psilídeo. Carvalho (2008) observou diferenças significativas em relação à suscetibilidade de populações de *D. citri* entre inseticidas neonicotinoides. Tiwari et al. (2011) avaliando a suscetibilidade de populações de *D. citri* da Flórida, EUA, confirmaram diferentes níveis de resistência de adultos e ninfas.

É necessário que sejam estudadas formas mais racionais de utilização de produtos químicos. Por exemplo, nos estudos de Qureshi e Stansly, (2010), os autores demonstraram que a aplicação de inseticidas de largo espectro na fase de repouso vegetativo das plantas de citros, e, portanto, período de menor população de *D. citri*, conduziu a uma redução de 10 a 15 vezes na quantidade de insetos adultos, por seis meses em média, quando comparado ao controle sem aplicação.

O Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) desenvolveu o sistema de alerta fitossanitário para auxiliar os citricultores no manejo regional do HLB. O sistema consiste de cerca de 26.000 armadilhas adesivas distribuídas nas regiões produtoras que são monitoradas semanalmente, e por meio do qual o citricultor pode acessar informações sobre a população de psilídeo e presença de brotações e dessa forma, produtores de uma mesma região se associam para realizar a pulverização numa mesma época (manejo regional) (FUNDECITRUS, 2016).

É necessário pensar ainda na utilização de inseticidas naturais, sendo que, alguns trabalhos já foram desenvolvidos nesta linha. Shivankar et al. (2000) avaliando extratos botânicos, inclusive o nim, obtiveram taxas de controle de até 90%. Resultados semelhantes foram obtidos por Santos et al. (2015), onde os autores verificaram uma mortalidade de quase 70% para adultos e de 90% para ninfas de *D. citri*.

O controle biológico com fungos entomopatogênicos para controle do psilídeo também vem sendo estudado. Em condições de campo sob alta umidade relativa (87% – 90%), foi verificada mortalidade de até 70% das ninfas, fato este relacionado à ocorrência de epizootias por fungos (AUBERT, 1987). Foi observado em pomares da Flórida em 2005 que *Isaria fumosorosea* causou, de forma espontânea, uma grande mortalidade de *D. citri* (MEYER et al., 2008).

Também foi verificada uma alta mortalidade, superior a 70%, causada por isolados do gênero *Beauveria*. O fungo altera a fisiologia do inseto impedindo a sua metamorfose, e ao vencer as defesas de *D. citri*, se torna porta de entrada para outros entomopatógenos oportunistas que podem matar o inseto (PADULLA; ALVES, 2009).

Orduño-Cruz et al. (2015) realizaram uma seleção *in vitro* de isolados de quatro espécies de fungos, e os resultados mostraram que duas delas, *Metarhizium anisopliae* e *I. fumosorosea* podem causar mortalidade de até 100% de adultos de *D. citri* e são passíveis de serem utilizadas em liberações inundativas.

No início desta década, foram iniciados alguns trabalhos para o manejo do HLB por meio do interplântio de goiabeira (*Psidium guajava* L. 1753) com citros, pois foi observado que pomares no Vietnã com presença de goiabeira apresentavam menores populações de *D. citri* e menor incidência da doença (GOTTWALD et al., 2010). Tal observação foi atribuída ao fato da goiabeira emitir voláteis que exercem ação repelente ao psilídeo (ZAKA et al., 2010; NORONHA, 2010). Além disso, de acordo com Onagbola et al. (2011), a goiabeira inibe a resposta de *D. citri* aos voláteis emitidos por plantas cítricas. No entanto, Ichinose et al. (2012) observaram que tal estratégia se mostrou eficiente apenas no primeiro ano de intercultivo, sendo que após dois anos de avaliação, a taxa de infecção por HLB se mostrou semelhante em pomares com e sem goiabeiras.

Dentre as alternativas de controle do vetor existem, além dos inseticidas químicos, os métodos biológicos (parasitoides, predadores e patógenos) e comportamentais. Embora os predadores possam ser importantes em outros países (MICHAUD, 2004), eles não têm se mostrado eficientes no Brasil (PAIVA, 2009) e uma das causas pode ser o fato da aplicação sistemática e, muitas vezes, irracional de produtos químicos.

Os dois maiores agentes de controle biológico de *D. citri* são duas espécies de parasitoides, o ectoparasitoide idiobionte *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) e o endoparasitoide *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shaffe, Alam e Agarwald, 1975) (Hymenoptera: Encyrtidae) (HALBERT; MANJUNATH, 2004). *T. radiata* vem se mostrando mais eficiente do que *D. aligarhensis*, isso pode ser observado nos levantamentos realizados nas Ilhas Reunión, onde o parasitismo foi de 70% e 20% respectivamente (AUBERT, 1987).

2.3 *Tamarixia radiata*

O ectoparasitoide idiobionte *T. radiata*, específico de *D. citri* (CHIEN, 1995), é o principal agente de controle utilizado para o psilídeo, reduzindo a população da praga em vários locais do mundo (CHIEN; CHU 1996; SKELLEY; HOY, 2004; PARRA et al., 2016). Casos de sucesso foram verificados nas Ilhas Reunión em 1978 e em Guadeloupe em 1999, onde liberações de 4.600 e 1000 adultos de *T. radiata*, respectivamente, foram suficientes para controlar a população de *D. citri* (ETIENE et al., 2001).

No Brasil, *T. radiata* foi registrada pela primeira vez em 2005 nos municípios de Jaboticabal e Piracicaba, SP (GOMEZ-TORRES et al., 2006); no entanto, os autores verificaram que o parasitoide não ocorria em todas as regiões e apresentava parasitismos variáveis, dependendo da região.

Os adultos são pequenos himenópteros de coloração escura medindo de 0,92 a 1,04 mm de comprimento, com asas hialinas e com venação amarelada; o dimorfismo sexual é facilmente observado, pois machos são menores do que as fêmeas tanto no comprimento quanto na envergadura das asas, porém suas antenas são cerca de 1,5 vezes maiores (ONAGBOLA et al., 2009).

Gomez-Torres (2009) observou uma variação cromática entre populações de *T. radiata* e estas variações são tratadas pela autora como adaptações ao ambiente e, portanto, os indivíduos pertencem à mesma espécie.

As fêmeas do ectoparasitoide colocam um, no máximo, dois ovos na face ventral das ninfas de *D. citri* entre o terceiro par de pernas, mas somente uma larva se desenvolve; uma vez eclodida ela passa a se alimentar da hemolinfa do hospedeiro e, ao final desta fase, ela adere os restos da ninfa à planta para criar uma proteção sob a qual possa pupar (HOY; NGUYEN; JEYAPRAKASH, 2015).

Com o avanço do parasitismo, a ninfa do psilídeo se torna escura e seca ao final do desenvolvimento de *T. radiata*. A emergência do adulto pode ser constatada por meio de um orifício arredondado no tórax da ninfa. Estas características permitem uma fácil detecção das ninfas que foram parasitadas (ETIENNE et al., 2001), além de diferenciá-las das ninfas parasitadas por *D. aligarhensis*, uma vez que este parasitoide emerge do abdome das mesmas.

T. radiata, parasita preferencialmente ninfas de 4º e 5º ínstaes, com taxas de parasitismo de 71,1% e 85,2%, respectivamente (CHU; CHIEN, 1991). Para estes mesmos ínstaes, Gomez-Torres (2009), obteve resultados similares, de 61,25 e 88,75%. Aliada à capacidade de parasitismo, *T. radiata*, apresenta uma característica bem interessante, pois,

também pode se alimentar de ninfas do 1º ao 3º ínstaes (CHU; CHIEN, 1991). Das ações combinadas de parasitismo e predação Chien e Chu, (1996), afirmaram que uma única fêmea do parasitoide pode eliminar até 500 ninfas do psilídeo. A alimentação das fases iniciais do psilídeo representa uma importante fonte proteica para maturação dos ovos do parasitoide (HOY; NGUYEN; JEYAPRAKASH, 2015).

Fauvergue e Quilici (1991) estudaram o efeito da alimentação suplementar para adultos de *T. radiata* e observaram que, quando alimentados com mel puro, ou solução aquosa de mel a 50%, a longevidade média foi de 24 e 21 dias, respectivamente; por outro lado, quando fornecida somente água, a longevidade caiu para apenas 2,1 dias. Porém, na presença de ninfas do psilídeo, Chien; Chu e Ku (1994) não verificaram diferença significativa na longevidade de *T. radiata* independente do alimento fornecido, pois, tais ninfas podem ter servido de alimento, já que o parasitoide também atua como predador.

Gomez-Torres (2009) também estudou a influência da alimentação suplementar no parasitismo e verificou que fêmeas alimentadas com mel e pólen têm o seu potencial de parasitismo aumentado.

Em condições de campo foi observado que variedades de *Citrus* podem influenciar o parasitismo, tendo sido observando maior porcentual na variedade Hamlin (35,6%), seguida pela Pêra (19,2%), Valência (8,6%) e Natal (7,3%) (PAIVA, 2009); em condições de laboratório por outro lado, tal efeito não foi verificado, bem como variações nos aspectos biológicos do parasitoide criado em ninfas sobre diferentes variedades de *Citrus* (ALVES, 2012).

Outro fator observado em condições de laboratório, que pode aumentar a taxa de parasitismo de *T. radiata* é sua associação com *Wolbachia*, com uma variação de 30,3 para 19,8% de parasitismo em indivíduos com o simbionte em relação àqueles sem a bactéria (GOMEZ-TORRES, 2009).

2.3.1 Utilização de *T. radiata* para controle de *D. citri* no mundo

Devido aos vários casos de sucesso de *T. radiata* para controle de *D. citri*, aumentaram os estudos sobre este importante inimigo natural e dessa forma, foi detectado naturalmente na Arábia Saudita (QING, 1990), Nepal (LAMA; REGMI; AUBERT, 1988), Indonésia (NURHADI, 1989), Tailândia (QING, 1990), Brasil (GOMEZ-TORRES, et al., 2006) Argentina (LIZONDO et al., 2007), Venezuela (CERMELI, 2007), Porto Rico (PLUKE; QURESHI; STANSLY, 2008), Colômbia (EBRATT-RAVELO, 2011).

Assim, vários países do mundo deram início ao processo de importação do inimigo natural; ilhas Reunión (ETIENNE; AUBERT, 1980), ilhas Mauritius (QING, 1990), Taiwan (CHIU; AUBERT; CHIEN, 1988), Filipinas (GAVARRA; MERCADO; GONZALES, 1990), ilhas Guadeloupe (ETIENNE et al., 2001), EUA (MICHAUD, 2004), México e Costa Rica (QURESHI, 2015).

Um caso de sucesso muito conhecido ocorreu nas ilhas Reunión, onde o HLB foi detectado pela primeira vez em 1967. Até então o controle do psíldeo era realizado na ilha exclusivamente pela aplicação de produtos químicos. O parasitoide foi importado da Índia e multiplicado em laboratório e 4600 parasitoides foram liberados em 14 regiões da ilha nos anos de 1978 e 1979. Foi verificado que o inimigo natural se estabeleceu na ilha e a população de *D. citri* sofreu significativa redução, ficando restrita apenas a algumas áreas de murta (ETIENNE et al., 2001).

Outro caso de sucesso ocorreu nas ilhas Guadeloupe, onde foi detectada a presença do psíldeo no ano de 1998; apesar de não haver registros da doença optou-se por importar o parasitoide devido à severidade dos danos decorrentes do HLB registrados em outros locais. Após a liberação do parasitoide em 20 distritos da ilha a população do psíldeo decresceu consideravelmente (ETIENNE et al., 2001).

Em Taiwan após sucessivas liberações entre os anos de 1983 e 1986, em plantas de *Citrus* e murta, foram registradas taxas de parasitismo de 30 a 87%. Também foi observada sua dispersão em áreas onde não foram realizadas liberações, comprovando sua capacidade de dispersão para áreas distantes (CHIU; AUBERT; CHIEN, 1988).

O inimigo natural foi introduzido, multiplicado e liberado nos anos de 1989 e 1990 em duas localidades das Filipinas, alcançando parasitismos de quase 70% (GAVARRA; MERCADO; GONZALES, 1990).

T. radiata e *D. aligarhensis* foram introduzidos na Flórida, EUA como forma de controle biológico clássico, dois anos após a detecção do psíldeo em 1998, quando a doença ainda não havia sido detectada. Em levantamentos posteriores, foi verificado que *T. radiata* estava presente mesmo em regiões onde não havia sido liberada, enquanto *D. aligarhensis* não conseguiu se estabelecer (MICHAUD, 2004).

Em Porto Rico, nos anos de 2004 e 2005 foram realizados levantamentos, sendo registrado um parasitismo de ninfas de *D. citri* por *T. radiata* de até 100% em plantas de *Citrus* e murta, com parasitismo médio de 70% (PLUKE; QURESHI; STANSLY, 2008).

Gomez-Torres (2009) realizou liberações inoculativas do parasitoide em pomares comerciais de laranja e observou uma redução na população de ninfas nos estágios finais de

desenvolvimento. O parasitismo ultrapassou 70% decorridos oito dias após a liberação e decresceu à uma faixa de 4,7 a 10% após 15 dias após a liberação.

Em alguns locais onde foi liberado, *T. radiata* não se estabeleceu. Este fato pode estar ligado à presença de hiperparasitoides (QING, 1990) ou a condições climáticas extremas, bem como aplicação de agroquímicos, como é o caso da Flórida (PLUKE; QURESHI; STANSLY, 2008).

Os trabalhos de Hall e Nguyen (2010) mostraram que de 16 inseticidas químicos utilizados na cultura dos citros, 12 deles apresentam alta ou média toxicidade para o parasitoide. Beloti et al. (2015) testaram o efeito residual em adultos de *T. radiata* de 25 produtos químicos e destes, 56% foram considerados nocivos para o mesmo.

Atualmente são realizadas mais de 30 pulverizações químicas anuais na cultura dos citros e de acordo com Parra et al. (2010), a eficácia do parasitoide é também comprometida pelo uso excessivo de inseticidas, sendo necessária a aplicação de produtos seletivos para utilização de *T. radiata* como componente de manejo integrado de pragas. Paiva e Parra (2012) verificaram um parasitismo por *T. radiata* de apenas 1,6% em pomares comerciais, não sendo registrado nenhum parasitismo por Diniz (2013) neste mesmo tipo de pomar.

Segundo Chu e Chien (1991), o parasitismo médio em pomares com baixa ou nenhuma aplicação de inseticidas foi de 46,7% e naqueles locais com alta aplicação destes produtos a taxa de parasitismo foi de apenas 4,2%.

T. radiata vem sendo estudado em diversos países, procurando-se melhorar a tecnologia de produção em larga escala. No Brasil, sua criação foi aperfeiçoada ao longo dos últimos anos (PARRA et al., 2016) e tal técnica foi inicialmente adaptada daquela utilizada para produção de *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) para controle de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) em citros (PARRA, 2010).

O Brasil vem se destacando na utilização de *T. radiata* para controle de *D. citri*; atualmente o país conta com seis biofábricas nas quais os parasitoides produzidos são liberados no estado de São Paulo (PARRA et al., 2016).

A utilização do parasitoide como agente de controle biológico do psílídeo poderá ser um componente adicional ao manejo integrado de pragas (MIP) em citros e, para tal é necessário que se façam adaptações na forma atual de manejo da praga, uma vez que o adulto parasitoide e o seu parasitismo são muito afetados pelos produtos químicos atualmente utilizados na citricultura (CARVALHO, 2008; FERRARI et al., 2009).

Gomez-Torres (2009) relatou que liberações de *T. radiata* poderão ser realizadas em áreas orgânicas, ou mesmo em áreas de grande ocupação pelo hospedeiro alternativo do psilídeo, *M. paniculata*, visando incrementar a população do parasitoide no campo.

2.4 Efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de *D. citri* e *T. radiata*

Uma vez que a temperatura corporal dos insetos é determinada pelas condições do ambiente (animais pecilotérmicos), sendo este o fator ambiental que mais influencia os aspectos biológicos dos insetos regulando suas populações (SILVEIRA NETO, 1976). Este parâmetro pode ser utilizado em modelos matemáticos que visem prever aumentos populacionais, como surtos de pragas (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999) bem como aumentar a eficiência do uso de inimigos naturais em regiões com diferentes condições climáticas (NAVA et al., 2006).

O sucesso de programas de controle biológico depende de fatores que afetam a eficiência dos parasitoides em campo, estimados em condições de laboratório (BIGLER, 1986).

Dentre os fatores ambientais, a temperatura afeta aspectos biológicos como a reprodução, fecundidade, duração do período de desenvolvimento, a taxa de emergência e longevidade dos insetos (STERN; BOWEN, 1963; BUTTLER JÚNIOR; LOPEZ, 1980; HARRISON; KING; OUZTS, 1985; NOLDUS, 1989; FLETCHER, 1989).

O efeito da temperatura na fase embrionária de *D. citri* foi estudado por Pande (1971), que registrou uma duração da fase de ovo de 4 a 6 dias em condições mais quentes e de 8 a 18 dias em condições mais frias.

Liu e Tsai (2000) estudaram o efeito da temperatura no desenvolvimento de *D. citri*. Verificou-se que a duração da fase ninfal varia de 10,6 a 39,6 dias e o ciclo biológico de 14,4 a 49,3 dias de acordo com a temperatura em uma faixa de 15 a 28 °C, sendo as temperaturas de 25 e 28 °C as mais adequadas ao desenvolvimento do psilídeo. Não houve desenvolvimento do inseto nas temperaturas de 10 e 33 °C.

Em trabalhos realizados no Brasil, Nava et al. (2007) encontraram uma duração média do período embrionário de *D. citri* de 8,2 a 2,6 dias na faixa de 18 a 32 °C, não sendo afetada a viabilidade dos ovos, que oscilou entre 81,6 e 95,2%. Para o ciclo biológico (ovo-adulto), houve uma variação de 43,5 a 12,1 dias na faixa de 18 a 32 °C. A 25 °C determinou-se uma duração de 17,1 dias.

O efeito da temperatura sobre *D. citri* também foi estudado por Nakata (2006) em *M. paniculata* na faixa de 15 a 32,5 °C. Com o aumento da temperatura, houve encurtamento no desenvolvimento até 30 °C. A 32,5 °C foi registrado aumento na duração e na mortalidade, que atingiu 83,3% nos últimos ínstaros do desenvolvimento. A 15 °C houve mortalidade de todas as ninfas de 5º ínstar.

Em condições de campo, Pande (1971) observou que, nos meses mais quentes do ano, o ciclo biológico pode variar de 10 a 15 dias, enquanto nos meses mais frios de 18 a 30 dias. Os resultados obtidos por Paiva e Parra (2012) coincidem com estes resultados, pois os autores também trabalhando em condições de campo, obtiveram uma duração e 18,0 a 24,7 dias, considerando-se temperaturas médias de 21,6 a 26 °C.

A temperatura também influencia a oviposição. De acordo com Liu e Tsai (2000), com o aumento da temperatura ocorrerá incremento no número de ovos, chegando a 748 a 28 °C. De acordo com Hall; Wenninger e Hentz (2011), a oviposição de *D. citri* pode ocorrer entre 17 e 41 °C; temperaturas de até -3 °C por mais de seis horas afetaram a viabilidade dos ovos e a -5,1 °C pelo mesmo tempo ocorrerá inviabilização total dos mesmos.

Gomez-Torres et al. (2012) realizaram estudos da biologia de *T. radiata* em diferentes temperaturas e elaboraram a tabela de vida e fertilidade, concluindo-se que a temperatura de 25 °C é a mais adequada ao desenvolvimento do inseto, por acarretar uma taxa líquida de reprodução (R_0) de 126,79, ou seja, uma capacidade de aumento de 127 vezes a cada geração. A ação do parasitoide foi maior entre 25 e 30 °C, com maior emergência na faixa de 25 a 35 °C. A razão sexual não foi afetada pela temperatura.

Estes resultados também estão de acordo com os trabalhos de Quilici; Joulain e Maninkon (1992), que afirmaram que o parasitismo é maior na faixa 25 a 30 °C, obtendo 115 e 230 ninfas parasitadas, respectivamente. As condições de 20 e 35 °C são prejudiciais, sendo observadas, apenas 30 ninfas parasitadas.

Outros autores, trabalhando com uma faixa de temperatura de 20 a 35 °C, obtiveram uma longevidade média de 37 a 8 dias, respectivamente, sendo a longevidade dos machos um pouco inferior àquela registrada para as fêmeas de *T. radiata* (FAUVERGUE E QUILICI, 1991).

2.4 Zoneamento climático de pragas

Os resultados obtidos em estudos de exigências térmicas apresentam contribuições importantes para modelos de simulação e de zoneamento ecológico de pragas, onde a

temperatura entra como um dos fatores imprescindíveis para a determinação do número de gerações e da previsão de ataques nas diferentes regiões do país (MILANEZ; PARRA, 2000).

O modelo de graus dias presume que a duração do desenvolvimento, relacionado à temperatura, é constante, sendo o somatório da temperatura computado a partir de um limiar térmico inferior (temperatura base) (HADDAD; PARRA; MORAES, 1999). Tal modelo, baseando-se nas exigências térmicas que o inseto necessita para completar determinada fase do seu ciclo de vida têm sido utilizado para determinar a ocorrência de insetos (PETERSON; MEYER, 1995; CIVIDANES; FIGUEIREDO, 1997; MEYER; PETERSON, 1998).

Na maioria dos estudos de zoneamento, a temperatura é o principal fator envolvido (PARRA, 1985; HAMADA et al., 2007), sendo que, nos modelos de previsão, as temperaturas do ar e do solo são usualmente empregadas como variáveis independentes e os resultados têm sido aplicados em programas de manejo de pragas, para orientar sobre a época mais adequada para a realização de amostragens, implementação de medidas de controle, fornecendo subsídios para um melhor entendimento da dinâmica populacional dos insetos-pragas e de seus inimigos naturais nos sistemas agrícolas (BERNAL; GONZÁLEZ, 1993; DAVIS et al., 1996; CIVIDANES; FIGUEIREDO, 1997). A temperatura do solo foi considerada mais adequada para previsão de ocorrência de pragas do que a temperatura do ar por apresentar menores discrepâncias em relação ao estimado em modelo (ÁVILA; MILANEZ; PARRA, 2002).

As exigências térmicas e os estudos biológicos da praga mostram que *D. citri* no Brasil suporta temperaturas mais elevadas do que populações dos EUA. Entretanto, há uma indicação de que acima de 30°C, o inseto tem o seu desenvolvimento prejudicado. Verificou-se também que baixas UR afetam a fase ninfal de *D. citri* (NAVA et al., 2007).

A temperatura exerce um efeito significativo na taxa de desenvolvimento, sobrevivência, reprodução e longevidade de *D. citri* e de seu parasitoide, *T. radiata* (GOMEZ-TORRES et al., 2012; PARRA; GOMEZ-TORRES; PAIVA, 2007; NAVA et al., 2007).

Gomez-Torres (2009) elaborou um zoneamento em um mapa de isotermas com base nas exigências térmicas e higrométricas de *D. citri* e de *T. radiata* e verificou que, para cada geração de *D. citri*, existem de 2,6 a 3,1; 3,1 a 4,0; 3,1 a 6,3 e 3,1 a 6,3 gerações de *T. radiata*, respectivamente, para as regiões Norte, Nordeste, Sudoeste e Sudeste do estado de São Paulo, levando em consideração simulações em temperaturas constantes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estudos biológicos de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) em temperaturas alternantes

Para determinar a duração das fases de desenvolvimento de *D. citri* (ovo-adulto, incluindo período de pré-oviposição), foram utilizadas plantas de murta (*Murraya paniculata* (L.) Jacq. 1820) acondicionadas em tubetes de polietileno preto de 250 mL com substrato comercial Tropstrato®, adubadas quinzenalmente com solução de fertilizante Peters® 20-20-20 a 1%. Plantas com uma haste foram podadas para emissão de brotações preferidas (Fig. 1a) pelo psíldeo para oviposição de acordo com Diniz (2013). As plantas foram então oferecidas para oviposição a um casal de *D. citri* por 24 horas e mantidas em câmara climatizada (25 ± 2 °C; $70 \pm 10\%$ UR) e fotofase de 14h. Após este período os adultos foram retirados e o número de ovos, presentes em cada tubete, contados.

Cada tubete foi colocado na tampa de copo de polietileno cristal de 700 ml e sobre ele foi colocado, outro copo, constituindo assim uma gaiola; o segundo copo, possuía abertura circular de 2,5 cm de diâmetro na qual foi fixada tela tipo *voile* para circulação de ar. (Fig. 1b).

Para avaliar a duração do período embrionário em cada uma das temperaturas, os ovos foram observados diariamente até a eclosão das ninfas; para avaliação do período ninfal, 30 destas ninfas, foram transferidas para novas plantas de murta com o auxílio de um pincel de apenas uma cerda, para não danificar o inseto. O desenvolvimento ninfal foi acompanhado até a emergência dos adultos. O período de pré-oviposição foi avaliado da emergência dos adultos até a colocação do primeiro ovo. Quando as brotações ultrapassavam o tamanho preferencial para oviposição, eram substituídos por novas brotações. Foram estudadas 10 repetições para cada tratamento.

Os resultados médios do desenvolvimento biológico de *D. citri* (ovo-adulto, incluindo período de pré-oviposição) obtidos neste trabalho, foram comparados aos resultados obtidos por Nakata (2006) e Nava et al. (2007).

Figura 1 - A- Brotações preferenciais de *Murraya paniculata* para *Diaphorina citri*; B-gaiolas utilizadas para realização dos experimentos com *D. citri* com temperaturas alternantes

3.2 Estudos biológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) em temperaturas alternantes

Para determinar a duração do ciclo de desenvolvimento *T. radiata* (ovo-adulto), também foram utilizadas plantas de murta em tubetes procedendo-se da mesma forma àquela utilizada para o psílideo (item 3.1). No entanto, após a oviposição de *D. citri* por 24 horas, os adultos foram retirados e foi permitido o desenvolvimento das ninfas até o quinto ínstar, mantendo 30 ninfas por gaiola.

Em cada gaiola com a planta e ninfas do psílideo, foi liberado um casal de *T. radiata* com dois dias de idade. Estas foram mantidas por 24 horas em câmara climatizada ($25 \pm 2^\circ\text{C}$; $70 \pm 10\%$ UR) e fotofase de 14h para parasitismo, após os quais os adultos do parasitoide foram retirados. As ninfas foram monitoradas diariamente até a emergência dos parasitoides, avaliando-se 10 repetições (gaiolas) por tratamento.

Os resultados da duração média do desenvolvimento biológico de *T. radiata* (ovo-adulto) obtidos neste trabalho, foram comparados aos valores, em temperaturas constantes, obtidos por Gómez-Torres (2009).

3.3 Escolha das temperaturas alternantes nos estudos biológicos de *D. citri* e *T. radiata* para cinco regiões citrícolas de São Paulo

Tanto para *D. citri* quando para *T. radiata*, procedeu-se da mesma forma, sendo as gaiolas transferidas para câmaras climatizadas reguladas de acordo com as condições do teste (Tabela 1).

As temperaturas foram escolhidas de modo a representar diferentes regiões dentro da área produtora de *Citrus* do estado de São Paulo, onde são realizadas liberações do parasitoide. Utilizaram-se as temperaturas médias diurna e noturna, para as quatro estações do ano das cidades de Votuporanga (região noroeste), Limeira (região sudeste), Araraquara (região nordeste), Tatuí e Santa Cruz do Rio Pardo (região sudoeste). Os dados climáticos foram fornecidos pelo Departamento de Biosistemas da ESALQ/USP.

Com os dados de temperatura máxima e mínima (T) para cada local e estação, determinados com base nos valores médios de 30 anos gerados a partir de modelos lineares, que empregam latitude, longitude e altitude como variáveis de entrada (ALVARES et al., 2013), foi feita uma reconstrução da curva de variação horária da temperatura. Com os dados horários simulados, foi admitido como T diurna os valores das 8 às 19h e de T noturna, das 20 às 7h. Em seguida, os resultados médios foram arredondados para cada meio grau Celsius, perfazendo assim 20 combinações de temperatura (tratamentos) de acordo com a Tabela 1. A média superior de temperatura foi associada à fotofase (12 h) e a média inferior à escotofase (12 h).

Tabela 1 - Temperatura média diurna e noturna das cidades de Votuporanga, Limeira, Araraquara, Tatuí e Santa Cruz do Rio Pardo para as quatro estações do ano, baseando-se nas normais climatológicas das citadas regiões

Cidades	Temperatura média (°C) diurna e noturna			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Votuporanga	27,0 e 22,5	27,5 e 23,5	24,5 e 20,0	24,0 e 19,0
Limeira	26,0 e 21,0	25,5 e 22,0	22,0 e 17,5	21,5 e 16,0
Araraquara	24,5 e 20,5	26,0 e 22,0	22,0 e 18,0	21,5 e 16,5
Tatuí	24,0 e 20,0	26,0 e 22,0	22,0 e 17,5	20,5 e 16,0
Santa Cruz do Rio Pardo	24,5 e 20,0	26,0 e 22,0	22,0 e 18,0	21,5 e 16,5

3.4 Cálculo do número gerações de *D. citri* e *T. radiata*

Para determinação do número de gerações das duas espécies, foi considerada a duração de cada estação de 90, 93, 92 e 90 dias para verão, outono, inverno e primavera respectivamente, dividindo-se pela duração obtida em cada uma das temperaturas, para todas as estações, pelo número de dias em cada estação.

3.5 Determinação da constante térmica (K) para *D. citri* e *T. radiata* por meio de temperaturas alternantes

A temperatura base (Tb) ou limiar térmico de desenvolvimento é a temperatura na qual o inseto tem um metabolismo muito baixo e o desenvolvimento é praticamente interrompido, e a constante térmica (K) é a quantidade de energia térmica que a espécie necessita para completar o seu desenvolvimento, sendo expressa em graus-dias (GD). Os valores de K foram estimados por meio da seguinte fórmula:

$$K = D (T - T_b)$$

Na qual, K= Constante térmica (graus dias); D= Número de dias necessários para completar o desenvolvimento; T= Temperatura de desenvolvimento (°C) e Tb= Temperatura base (°C). O valor de Tb para *D. citri* foi determinado em 13,53 °C (NAVA et al., 2007), enquanto para *T. radiata* foi determinado em 7,13°C (GOMEZ-TORRES, 2009), ambas resultantes de estudos em temperaturas constantes. Assim, considerando o valor existente de Tb e o tempo de desenvolvimento dos insetos obtidos em cada combinação de temperatura foi possível determinar o valor de K para cada condição testada.

3.6 Determinação do fator de correção da constante térmica de *D. citri* e *T. radiata* para as diferentes estações do ano

Segundo Higley, Pedigo e Ostlie (1986) variações de 10-15% em relação ao valor de K calculado sob temperatura constante são aceitáveis, e fora desta faixa é necessário a utilização de fatores de correção para se ajustar ao modelo estudado.

Foi considerado o valor estimado de K em condições de temperatura constante determinado para *D. citri* de 210,91 GD (K) (NAVA et al., 2007) e para *T. radiata* de 188,7 graus dias (GD) (GOMEZ-TORRES, 2009); para aqueles valores obtidos para cada localidade e estação do ano simulada nesta pesquisa (Tabela 1) que superarem 15%, em relação a 210,91 e 188.7 GD, será utilizado um fator de correção que equivale a multiplicação do valor obtido pela diferença em relação àquele da temperatura constante.

3.7 Suporte para tomada de decisão referente à liberação de *T. radiata* no estado de São Paulo com base no Sistema de Alerta de *D. citri* desenvolvido pelo FUNDECITRUS, levando-se em consideração as exigências térmicas de *D. citri*

Visando aumentar a eficiência do Sistema de Alerta do Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS), por meio do uso de novos métodos de controle, não apenas de inseticidas químicos, foram utilizados os dados do sistema de alerta e os parâmetros biológicos para *D. citri* estimados no item 3.3, com a finalidade de propor o momento mais indicado para liberação de *T. radiata*, para cidades que representam as diferentes regiões abrangidas pelo sistema. Com os valores de duração do ciclo biológico de *D. citri*, estimados para as cidades de Limeira, Tatuí, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo e Votuporanga, propôs-se a liberação de *T. radiata* para as regiões correspondentes, sendo elas, Casa Branca, Avaré, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo e Bebedouro, respectivamente.

O sistema de alerta teve início em 2011, com as regiões de Santa Cruz do Rio Pardo, e Avaré e atualmente conta com sete regiões. Destas sete regiões, duas (Lins e Frutal), cujas avaliações foram iniciadas no final de 2015, não serão computadas no presente estudo (Tabela 2).

O sistema de alerta é acionado, com base na coleta de adultos do psíldeo em armadilhas adesivas amarelas, dispostas nas bordaduras dos pomares comerciais, associando tal presença com ocorrência de fluxos vegetativos (brotações) dos pomares. O sistema abrange boa parte do parque citrícola de São Paulo, com um total de 26.000 armadilhas.

Tabela 2 - Informações das regiões abrangidas pelo Sistema de Alerta desenvolvido pelo Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) utilizadas na estimativa do momento ideal de liberação de *Tamarixia radiata*

Regiões	Início do monitoramento	Nº Municípios monitorados	Área monitorada (mil ha)	Nº de plantas (milhões)	% de plantas monitoradas em relação ao total	Nº de vezes em que o sistema de alerta foi acionado
Avaré	Nov_11	26	63,7	29,2	92,8	25
Araraquara	Jul_13	23	40,7	18,6	60,3	16
Bebedouro	Nov_13	16	22,7	10,9	62,7	11
Casa Branca	Jul_14	15	26,1	10,6	36,6	9
Santa Cruz do Rio Pardo	Nov_11	13	20,9	9,7	67,3	25

Foi feita uma estimativa do momento mais adequado para liberação do parasitoide *T. radiata* tendo como base a duração do ciclo de desenvolvimento de *D. citri* (ovo-adulto,

incluindo período de pré-oviposição), o tempo médio estimado de dispersão do psílídeo de acordo com a literatura e também a duração dos dois últimos ínstaes ninfais do psílídeo.

O cálculo do momento ideal de liberação do parasitoide *T. radiata*, foi obtido, utilizando-se a seguinte fórmula:

$$L = D - (4,5 + d_4 + d_5)$$

Onde L= dias após o alerta fitossanitário ser acionado, como base para a recomendação de liberação de *T. radiata*; D= duração do ciclo biológico de *D. citri* obtido em temperaturas alternantes; 4,5= Média do tempo de migração do psílídeo após a emergência, tomando como base, o trabalho de Kobori; Nakata; Ohto, (2011); d_4 = duração do quarto ínstar de desenvolvimento; d_5 = duração do quinto ínstar de desenvolvimento de *D. citri*, de acordo com NAKATA, (2006), pelo fato deste autor estudar o desenvolvimento das fases ninfais de *D. citri* em temperaturas que variaram de 15 a 32,5 °C.

3.8 Análises estatísticas

Os dados de duração média do desenvolvimento biológico obtidos para *D. citri* (ovo-adulto, incluindo período de pré-oviposição) e *T. radiata* (ovo-adulto) foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade avaliando-se os efeitos da estação, bem como da temperatura média diurna e noturna para condições testadas.

Para estudar se há uma relação linear entre as temperaturas dos municípios e o número de gerações, foram utilizados modelos de regressão linear, nos quais foram testadas como variáveis explicativas (independentes): a) temperatura média diurna isoladamente; b) a temperatura média noturna isoladamente; c) média das temperaturas noturna e diurna; d) a temperatura média diurna e a noturna (regressão linear múltipla).

Um modelo de regressão linear simples é dado pela seguinte expressão geral:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon_i$$

onde Y é a variável resposta (dependente), X é a variável explicativa (independente), β_0 é o intercepto (valor da função para o qual $X = 0$) e β_1 é o coeficiente de inclinação da reta que

mede o quanto uma variação em X implica uma variação em Y e ε_i é o erro associado ao modelo. Para estimar o ajuste do modelo, utilizou-se o coeficiente de determinação ajustado, r^2 (GOTELLI; ELLISON, 2004). O valor de r^2 varia de 0 a 1 e informa a proporção da variação na variável Y que pode ser atribuída à variação na variável X a partir de uma regressão linear.

As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico R[®] (R Development Core Team, 2015).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Duração média do desenvolvimento biológico de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) em temperaturas alternantes

4.1.1 Período embrionário

Foi verificado efeito da temperatura sobre a duração do período embrionário de *D. citri* entre os tratamentos que simularam as diferentes localidades ($F_{4, 216}=52,939$, $P<0,001$) e as estações do ano ($F_{3, 216}=565,224$, $P<0,001$). A interação localidade e estação do ano também foi significativa ($F_{12, 216}=7,342$, $P<0,001$).

O psílídeo, *D. citri*, apresentou uma menor duração do período embrionário no verão (variando de 2,8 a 4,4 dias) e uma maior no inverno (de 6,9 a 9,9 dias) para quase todas as cidades estudadas (Figura 2A).

As combinações de temperaturas de 27,5 e 23,5°C (média diurna e noturna, respectivamente) e 20,5 e 16,0°C correspondem às condições extremas aqui testadas e referem-se as simulações realizadas para Votuporanga no verão e Tatuí no inverno (embora esta não diferindo estatisticamente de Limeira, Tatuí e Santa Cruz do Rio Pardo), respectivamente. Nessas condições *D. citri* necessitou de apenas 2,8 dias para completar o desenvolvimento embrionário na combinação mais quente e de 9,9 dias para condição mais fria.

Os resultados obtidos neste trabalho, com simulações de temperaturas alternantes, indicam que ocorre uma redução nesta fase do desenvolvimento para o outono, verão e primavera, quando comparados aos resultados encontrados na literatura; no entanto, no inverno, os resultados se aproximam daqueles citados na literatura para temperaturas constantes equivalentes (NAKATA, 2006; NAVA et al., 2007).

A fase de ovo é bastante sensível às variações térmicas, com encurtamento do período embrionário decorrente do incremento térmico (HOWE, 1967).

4.1.2 Período ninfal

A análise de variância mostrou que tratamentos que simularam as diferentes localidades ($F_{4, 180}=173,41$, $P<0,001$) e as variações das estações ($F_{3, 180}=738,26$, $P<0,001$) tiveram efeito sobre a duração da fase ninfal de *D. citri*. A interação localidade e a estação também foi significativa ($F_{12, 180}=14,31$, $P<0,001$).

Foi observada pouca variação na duração da fase ninfal de *D. citri* ao compararmos as estações da primavera, verão e outono (Figura 2 B). As combinações simuladas para Votuporanga diferiram estatisticamente de todas as simulações feitas para as outras cidades e em todas as épocas do ano, sendo encontrada na simulação para esta cidade, a menor duração da fase ninfal (12,3 dias). A maior duração deste período ocorreu no inverno e novamente para as simulações realizadas para Tatuí (32,9 dias).

Os resultados obtidos estão próximos dos encontrados na literatura, (NAKATA, 2006; NAVA ET AL., 2007), principalmente para as estações mais quentes do ano (verão e primavera); dessa forma, a temperatura alternante não exerceu grande efeito nesta fase do desenvolvimento de *D. citri* quando comparada à temperatura constante.

4.1.3 Período de pré-oviposição

Foi verificado efeito da temperatura sobre a duração do período de pré-oviposição de *D. citri* entre os tratamentos que simularam as diferentes localidades ($F_{4, 202}=41,47$, $P<0,001$) e as estações do ano ($F_{3, 202}=227,55$, $P<0,001$). A interação localidade e estação também foi significativa ($F_{12, 202}=17,33$, $P<0,001$).

O maior período de pré-oviposição foi observado para as simulações de Tatuí, na estação do inverno, sendo de aproximadamente 32 dias (Figura 2C). Por outro lado, os menores períodos de pré-oviposição foram verificados na estação da primavera para as simulações de Limeira e Votuporanga, sendo de 6,8 e 6,9 dias, respectivamente.

A alternância térmica parece não afetar o período de pré-oviposição em relação a estudos com temperaturas constantes, pois, Liu e Tsai (2000), observaram que em temperaturas constantes de 15 °C, a duração desse período é de aproximadamente 40 dias, próximos aos 32 dias, obtidos neste trabalho com oscilação térmica (20,5 e 16 °C).

É sabido que *D. citri* necessita amadurecer os ovários para dar início a colocação de ovos, como foi demonstrado por Nava et al. (2007), onde os autores trabalharam com três hospedeiros e observaram que este período dura em média 10 dias a 24 °C $\pm$ 2 e não é afetado pelo hospedeiro.

Diferenças no período de pré-oviposição foram observadas para *D. citri*, quando esta praga se alimentava de folhas jovens e folhas maduras, verificando que 88,4% e 33,3% das fêmeas respectivamente estavam aptas para oviposição após setes dias (UECHI; IWANAMI, 2012). Outro fator que afeta o período de pré-oviposição é a idade do parceiro sexual. Segundo Wenninger e Hall (2007), quando os machos ou fêmeas jovens copulam com parceiros sexuais mais velhos, ocorre uma considerável redução neste período.

Figura 2 - Duração do desenvolvimento biológico de *Diaphorina citri* em cinco simulações de temperaturas alternantes, representando as médias de temperatura diurna e noturna de cinco cidades citricolas do estado de São Paulo, para as quatro estações do ano. A- Período embrionário; B- Período ninfal; C- Período de pré-oviposição. Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si para uma mesma estação pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.1.4 Duração do ciclo total (ovo-adulto+ período de pré-oviposição)

Foi verificado efeito da temperatura alternante sobre a duração do desenvolvimento total de *D. citri* entre os tratamentos que simularam as diferentes localidades ($F_{4, 12}=5,965$, $P<0,01$) e as variações das estações do ano ($F_{3, 12}=35,155$, $P<0,001$).

Apenas o inverno diferiu estatisticamente das demais estações estudadas, quando comparados dentro de uma mesma cidade (Figura 3). O fator que mais contribuiu para o prolongamento do ciclo de *D. citri* para as simulações de Tatuí no inverno, foi o período de pré-oviposição, esta fase do desenvolvimento foi responsável por alongar o ciclo do psilídeo em praticamente 32 dias. Parâmetro que não fora considerado em outros trabalhos de zoneamento da praga, pois Gomez-Torres (2009) considerou no estudo de zoneamento com base em isotermas, para o estado de São Paulo, um período de pré-oviposição de 10 dias para todas as condições analisadas.

Figura 3 - Duração do ciclo biológico de *Diaphorina citri* (ovo-adulto+ período de pré-oviposição) em cinco cidades citrícolas do estado de São Paulo, com base nas médias de temperatura diurna e noturna para as quatro estações do ano. Médias seguidas da mesma letra para uma mesma localidade, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A menor duração do ciclo biológico de *D. citri* (ovo-adulto + período de pré-oviposição) ocorreu no verão para a simulação das temperaturas de Votuporanga, sendo de 22,9 dias, como já era esperado, uma vez que, as combinações simuladas para esta cidade

apresentam as maiores médias de temperatura noturna e diurna em todas as estações do ano. Já o ciclo mais longo, ocorreu para as combinações de Tatuí no inverno, sendo de um pouco mais de 74 dias. Na média geral, para as cidades de Araraquara, Limeira e Santa Cruz do Rio Pardo foram encontrados resultados semelhantes.

O aumento na duração do ciclo biológico de *D. citri* nas simulações de Tatuí que apresenta a menor média de temperatura diurna e noturna durante o inverno (20,5 e 16,0 °C) pode ser explicado pelo fato da temperatura noturna aliada a uma baixa temperatura diurna, está mais próxima à T_b do inseto, que é de 13,53, segundo Nava et al. (2007). Acredita-se que o inseto teve o seu metabolismo fortemente reduzido o que ocasionou num prolongamento do ciclo, fato que só foi observado nesta cidade.

Os resultados de duração do ciclo total de *D. citri*, obtidos no presente trabalho, diferem dos relatados na literatura (NAKATA, 2006; NAVA et al., 2007), por exemplo, se comparados os resultados obtidos para Tatuí, com média de temperatura noturna e diurna de 18,3 °C, a duração total seria de 74,2 dias, enquanto na literatura em temperatura constante, é observado um período de desenvolvimento de 46 dias (NAKATA, 2006) e 43,5 dias (NAVA et al., 2007). Essa diferença se deve ao fato dos autores não considerarem o período de pré-oviposição.

4.2 Duração do ciclo total *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)

Foi verificado efeito sobre a duração do ciclo biológico do parasitoide entre os tratamentos que simularam as diferentes localidades ($F_{4, 200}=139,56$, $P < 0,001$) e as estações do ano ($F_{3, 200}=573,81$, $P < 0,001$). A interação localidade e estação também foi significativa ($F_{12, 200}=35,11$, $P < 0,001$).

O parasitoide *T. radiata*, apresentou uma menor duração do ciclo biológico no verão (variando de 9,8 a 12,5 dias) e uma maior no inverno (de 13,1 a 21,6 dias) para quase todas as cidades estudadas (Figura 4).

As combinações de temperaturas de 27,5 e 23,5 °C (média diurna e noturna, respectivamente) e 20,5 e 16,0 °C correspondem às condições extremas aqui testadas e referem-se as simulações feitas para as cidades de Votuporanga no verão e Tatuí no inverno, respectivamente. Nessas condições o parasitoide necessitou de apenas 9,8 dias para completar a geração na combinação mais quente e de 21,6 dias para condição mais fria.

Figura 4 - Duração do ciclo biológico de *Tamarixia radiata* para as simulações realizadas para cinco cidades citrícolas do estado de São Paulo, com base nas médias de temperatura diurna e noturna para as quatro estações do ano. Médias seguidas da mesma letra para uma mesma estação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Avaliações realizadas por Gomez-Torres et al. (2012) sob temperaturas constantes de 20 e 25 °C, indicaram valores de ciclo biológico de *T. radiata* de 18,84 e 15,53 dias, respectivamente. Nessas mesmas temperaturas constantes, Chien et al. (1993) obtiveram 20,3 e 11,6 dias, respectivamente, valores estes próximos àqueles obtidos neste estudo de 21, 6 e 9,8 dias de duração do ciclo biológico do parasitoide para as combinações de temperatura mais extremas. Presume-se dessa forma, que a duração do ciclo biológico do parasitoide não é muito afetada, desenvolvendo sob temperaturas constantes ou alternantes.

Cônsoli e Parra (1995) compararam temperaturas alternantes e constantes, no desenvolvimento do parasitoide de ovos *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e não observaram diferença estatística no número de graus dias acumulados em ambos os casos.

4.3 Cálculo do número de gerações de *D. citri* e *T. radiata*

Com base nos resultados dos parâmetros biológicos, obtidos nas diferentes médias de temperaturas diurna e noturna para as 20 combinações estudadas, foi possível determinar o número de gerações de *D. citri* que podem ocorrer por estação e por ano.

Como já era esperado, por ser uma região com maiores médias de temperatura, a cidade de Votuporanga correspondente à região noroeste do estado, apresentou o maior

número de gerações para *D. citri* para todas as estações. Portanto, considerando-se o período de pré-oviposição, o número de gerações de *D. citri* é variável de 9,8 (Tatuí) a 13,4 (Votuporanga) por ano (Tabela 3).

Tabela 3- Número de gerações (ovo-adulto + período de pré-oviposição) de *Diaphorina citri* em cinco cidades citrícolas do estado de São Paulo, com base nas médias de temperatura diurna e noturna para as quatro estações do ano

Estações	Regiões				
	Limeira	Tatuí	Araraquara	Santa Cruz do Rio Pardo	Votuporanga
Primavera	3,1	3,1	3,3	3,3	3,6
Verão	2,9	3,2	3,2	3,2	3,9
Outono	2,3	2,3	3,0	3,0	3,5
Inverno	2,0	1,2	1,8	1,8	2,5
Total	10,3 a	9,8 a	12,2 ab	11,2 ab	13,4 b

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Com base no desenvolvimento em temperaturas alternantes, as simulações realizadas para Votuporanga e Tatuí, mostraram um maior número de gerações no verão, porém, nas simulações para Limeira, Araraquara e Santa Cruz do Rio Pardo, o máximo de gerações foi verificado na primavera. Por outro lado, o menor número de gerações, foi observado para a estação mais fria do ano, ou seja, o inverno, em todas as combinações estudadas.

O mapa do estado de São Paulo com a localização geográfica das cidades para as quais foram realizadas as simulações de temperatura, bem como o número de gerações obtidas em cada uma delas, podem ser visualizadas na Figura 5.

Os trabalhos encontrados na literatura (NAKATA, 2006; NAVA et al., 2007) relacionados à duração do ciclo biológico de *D. citri* em diferentes temperaturas, não mencionam o período de pré-oviposição, dessa forma, apresentarão resultados inferiores aos encontrados aqui.

Figura 5 - Número de gerações (período ovo-adulto + período de pré-oviposição) de *Diaphorina citri* obtidas em temperaturas alternantes para as quatro estações do ano simulando as condições de temperatura das cidades de Votuporanga, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo, Limeira e Tatuí/ SP

Como base na análise de regressão linear, a variável dependente, número de gerações de *D. citri* foi melhor explicada pela média das temperaturas diurna e noturna, sendo o ajuste de 0,73 (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros estimados para os modelos de regressão linear testados para *Diaphorina citri* e respectivos erros padrões (em parênteses)

Variável independente	β_0	β_1	r^2 ajustado
T_{dia}	-3,871(0,941)	0,278(0,039)	0,72
T_{noite}	-1,895(0,658)	0,240(0,034)	0,72
$*T_{\text{dia}} / T_{\text{noite}}$	-2,878 (1,464)	0,129(0,172)/0,131(0,148)	0,72
$T_{\text{média}}$	-2,886(0,778)	0,261(0,036)	0,73

*Para o modelo de regressão múltipla, as variáveis T_{dia} e T_{noite} não foram estatisticamente significantes a um nível de 5%.

Para *T. radiata*, os números extremos de gerações do parasitoide também concordaram com as condições apresentadas para duração variando de 4,3 (Tatuí – inverno) a 9,2 (Votuporanga – verão). Considerando-se o total anual, o número de gerações variou de 31,4 a

24,3 também para as condições referentes às simulações realizadas para Votuporanga e Tatuí, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5- Número de gerações de *Tamarixia radiata* observados para as cidades citrícolas do estado de São Paulo para as quatro estações do ano

Estações	Regiões				
	Limeira	Tatuí	Araraquara	Santa Cruz do Rio Pardo	Votuporanga
Primavera	8,3	7,0	7,3	7,3	8,7
Verão	7,6	7,2	7,2	7,2	9,2
Outono	5,1	5,8	5,8	5,8	6,5
Inverno	5,6	4,3	5,7	5,7	7,0
Total	26,6	24,3	25,4	26,0	31,4

Como base na análise de Regressão linear, a variável dependente, número de gerações de *T. radiata* foi melhor explicada pela temperatura diurna, ($r^2 = 0,88$; $P < 0,01$) (Tabela 6). Para a maioria dos trabalhos de previsão de ocorrência de pragas ou mesmo de inimigos naturais, normalmente, apenas a temperatura constante é considerada. No entanto, Vangansbeke et al. (2015) estudando ácaros predadores e suas presas, demonstrou que o desenvolvimento destes organismos é longo, quando temperaturas diurnas são alternadas, o que confirma os resultados da análise de regressão linear, obtidas neste trabalho. Os mesmos autores observaram que algumas espécies podem não completar o seu desenvolvimento em temperaturas constantes de 35 °C; no entanto, outras sobrevivem em temperaturas alternantes, sendo a diurna de 37,5 °C e a noturna, mais baixa.

Tabela 6. Parâmetros estimados para os modelos de regressão linear testados para *Tamarixia radiata* e respectivos erros padrões (em parênteses)

Variável independente	β_0	β_1	r^2 ajustado
T_{dia}	-6,349 (1,104)	0,546(0,046)	0,88
T_{noite}	-2,048 (1,004)	0,450 (0,051)	0,80
$*T_{\text{dia}} / T_{\text{noite}}$	-7,499 (1,720)	0,718 (0,202)/-0,152 (0,174)	0,88
$T_{\text{média}}$	-4,139 (1,050)	0,500 (0,048)	0,85

*Para o modelo de regressão múltipla, a variável T_{noite} não foi estatisticamente significativa a um nível de 5%.

O mapa do estado de São Paulo com a localização geográfica das cidades para as quais foram realizadas as simulações de temperatura, bem como o número de gerações obtidas em cada uma delas podem ser visualizadas na Figura 6.

Figura 6 - Número de gerações (período ovo-adulto) de *Tamarixia radiata* nas quatro estações do ano simulando as condições de temperatura das cidades de Votuporanga, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo, Limeira e Tatui/ SP

A média anual de gerações obtidas para *D. citri* e *T. radiata* por meio do desenvolvimento em temperaturas alternantes, foi comparado aos resultados obtidos por Gomez-Torres (2009) estimados com base em temperaturas constantes utilizando o Sistema de Informação Geográfica (SIG) (Tabela 7). De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, *D. citri* não se ajusta aos intervalos encontrados para as cidades simuladas de Votuporanga (região Noroeste), Santa Cruz do Rio Pardo (região Sudoeste) e Araraquara (Nordeste), sendo a diferença de 0,35, 0,41 e 0,41, respectivamente. Entretanto, em geral a variação pode ser explicada pelo fato da autora ter considerado um período de pré-oviposição fixo de 10 dias. Já *T. radiata* se encontra dentro dos limites encontrados pela referida autora.

Nota-se que, para *D. citri*, as cidades de Votuporanga, Araraquara e Santa Cruz do Rio Pardo ultrapassaram os valores e as outras cidades também ficaram próximas a ultrapassá-los, no entanto a autora considerou um período de pré-oviposição de 10 dias e como verificado anteriormente, este período pode ultrapassar 30 dias dependendo da temperatura na qual o inseto está sendo criado.

O estudo não levou em consideração a viabilidade nas diferentes temperaturas, tanto para *D. citri* quanto para *T. radiata*, pois o objetivo era apenas determinar o número de

gerações. Entretanto, na faixa estudada as mortalidades são próximas, sendo que para *D. citri*, apenas a temperatura de 32 °C causa maior mortalidade (NAVA et al., 2007). Como o objetivo era definir o início das gerações para liberação dos parasitoides, não interessa na presente pesquisa, o nível populacional existente, pois o controle deverá ser realizado no início da população.

Os resultados obtidos por Gomez-Torres (2009) com temperaturas constantes com relação ao número de gerações de *D. citri* e *T. radiata* mostram intervalos mais amplos, por ter sido feito um zoneamento em um mapa de isotermas. Esta maior amplitude ocorrem, pois, numa mesma região são englobadas cidades que se encontram em condições diferentes. Entretanto, os resultados obtidos em temperaturas alternantes encontram-se em geral, dentro das faixas de valores obtidos com temperaturas constantes, mostrando a adequação do modelo desenvolvido com tal alternância com a vantagem de que os dados são únicos e facilitam uma tomada de decisão em programas de MIP.

Tabela 7 - Número provável de gerações de *Diaphorina citri* e *Tamarixia radiata* em cinco cidades citrícolas do estado de São Paulo, com base nas médias de temperatura diurna e noturna alternantes para as quatro estações do ano em comparação aos dados obtidos em temperaturas constantes

Regiões		Votuporanga/ Noroeste		Araraquara/Nordeste		Tatuí/Sudoeste		Limeira/Sudeste		SCR Pardo/Sudoeste	
Estações/mês		<i>D. citri</i>	<i>T. radiata</i>	<i>D. citri</i>	<i>T. radiata</i>	<i>D. citri</i>	<i>T. radiata</i>	<i>D. citri</i>	<i>T. radiata</i>	<i>D. citri</i>	<i>T. radiata</i>
Verão	Dezembro	0,44	1,02	0,35	0,80	0,35	0,80	0,32	0,84	0,35	0,80
	Janeiro	1,35	3,16	1,09	2,48	1,09	2,48	1,00	2,61	1,09	2,48
	Fevereiro	1,22	2,86	0,98	2,24	0,98	2,24	0,90	2,35	0,98	2,24
	Março	0,92	2,14	0,74	1,68	0,74	1,68	0,68	1,76	0,74	1,68
Outono	Março	0,37	0,69	0,32	0,63	0,25	0,63	0,25	0,55	0,32	0,63
	Abril	1,12	2,08	0,95	1,88	0,75	1,88	0,75	1,66	0,95	1,88
	Maio	1,15	2,15	0,98	1,94	0,77	1,94	0,77	1,71	0,98	1,94
	Junho	0,82	1,53	0,70	1,38	0,55	1,38	0,55	1,22	0,70	1,38
Inverno	Junho	0,17	0,61	0,15	0,50	0,11	0,37	0,17	0,48	0,15	0,50
	Julho	0,66	2,37	0,59	1,93	0,42	1,44	0,66	1,87	0,59	1,93
	Agosto	0,66	2,37	0,59	1,93	0,42	1,44	0,66	1,87	0,59	1,93
	Setembro	0,47	1,68	0,42	1,37	0,30	1,02	0,47	1,33	0,42	1,37
Primavera	Setembro	0,32	0,78	0,29	0,65	0,27	0,62	0,28	0,73	0,29	0,65
	Outubro	1,24	3,01	1,13	2,52	1,05	2,40	1,07	2,84	1,13	2,52
	Novembro	1,20	2,91	1,09	2,44	1,02	2,33	1,04	2,75	1,09	2,44
	Dezembro	0,84	2,04	0,63	1,56	0,71	1,63	0,73	1,93	0,63	1,56
Anual		13,40	31,40	11,19	25,60	9,81	24,30	10,30	26,60	11,19	25,60
Anual (Gomez-Torres, 2009)		10,78-13,05	31,28-35,23	6,22-10,78	23,40-31,28	3,95-10,78	19,45-31,28	3,95-10,78	19,45-31,28	3,95-10,78	19,45-31,28

Os resultados das simulações para as cinco cidades do estado de São Paulo mostram ainda que sempre para uma geração de *D. citri* existem, pelo menos, duas gerações de *T. radiata*, chegando a 2,58 gerações na cidade de Limeira (Tabela 7). Isto vem, mais uma vez, demonstrar o potencial de *T. radiata* no controle do psílídeo, vetor do HLB.

4.4 Constante térmica (K) para *D. citri* e *T. radiata* por meio de temperaturas alternantes

Para *D. citri*, quando consideradas as quatro estações do ano, não se verificou um bom ajuste ao valor previsto no modelo realizado (Tabela 8), entretanto o ajuste para *T. radiata* foi melhor (Tabela 9). Segundo Higley, Pedigo e Ostlie (1986), diferenças entre 10 e 15% para modelos de graus dias, são toleráveis para se estimar a ocorrência dos insetos em um sistema de manejo integrado de pragas.

Quando se considera *D. citri*, pode-se notar que na primavera, apenas as simulações realizadas para Araraquara e Santa Cruz do Rio Pardo, e no outono para estas mesmas duas cidades e Votuporanga, se adequaram aos limites de diferença aceitos. No verão e no inverno, nenhuma das cidades simuladas está dentro da diferença entre 10 e 15% para modelos de graus dias (Figura 7).

Acredita-se que o não ajuste da maior parte dos resultados, quando comparados com a literatura se deva ao fato de Nava et al. (2007) não terem considerado o período de pré-oviposição nos seus estudos, ocorrendo como podemos notar, uma discrepância muito grande nos resultados.

Tabela 8- Diferenças (%) entre os valores de Constante térmica (K) estimados e observados para *Diaphorina citri* para as regiões citrícolas do estado de São Paulo estudadas

Estações	K Graus-Dias (GD)	Regiões				
		Limeira	Tatuí	Araraquara	Santa Cruz R. Pardo	Votuporanga
	Estimado*			210,91		
Primavera	Observado	302,50	249,60	239,20	239,20	280,90
	Diferença	43,43	18,34	13,41	13,41	33,18
Verão	Observado	318,00	298,40	298,40	298,40	274,10
	Diferença	50,78	41,48	41,48	41,48	29,96
Outono	Observado	249,20	249,20	204,10	204,10	234,40
	Diferença	18,15	18,15	-3,23	-3,23	11,14
Inverno	Observado	243,80	350,00	286,40	286,40	299,10
	Diferença	15,59	65,95	35,79	35,79	41,81

*Segundo Nava et al. (2007).

Nas simulações feitas para as cidades de Limeira, Tatuí e Votuporanga na primavera, são necessários fatores de correção de 1,434, 1,183 e 1,332, respectivamente. Por outro lado, no verão, para Limeira, Tatuí, Araraquara, Santa Cruz do Rio Pardo e Votuporanga, os fatores de correção, serão de 1,508, 1,415, 1,415, 1,415 e 1,300, respectivamente; no outono, apenas Limeira e Tatuí, necessitam de ajustes com fatores de correção de 1,182, para ambas as cidades; no inverno, todas as cidades necessitam de correção, seguindo a mesma ordem para o verão, tais fatores de correção, serão de 1,156, 1,660, 1,358, 1,358 e 1,418, respectivamente.

Se for considerado o modelo de exigências térmicas estimado por Nakata (2006) para populações japonesas de *D. citri*, sujeitas à condições climáticas mais amenas, com valor de constante térmica de 232,26 GD, ainda assim ocorreriam diferenças, porém menores comparados aos resultados de Nava et al. (2007).

Figura 7 - Constante térmica (K) estimada e observada para *Diaphorina citri* para as regiões citrícolas do estado de São Paulo. Linha sólida- constante térmica estimada segundo Nava et al. (2007); linha pontilhada- limite de até 15% toleráveis.

Para *T. radiata*, diferente do que ocorreu para *D. citri*, apenas nas simulações feitas para Limeira e Votuporanga no outono e Tatuí no inverno, os resultados de constante térmica obtidos não validaram o modelo, uma vez que foi verificada uma diferença superior a 15%.

Com relação às estimativas da constante térmica, os valores obtidos para Tatuí (inverno) e Limeira (outono) foram superiores em mais de 15% em relação ao estimado sob

temperatura constante, não sendo, ajustadas ao modelo proposto, porém, com o uso do fator de correção, eles podem ser considerados válidos. Para as demais condições, os valores ficaram dentro da faixa aceitável.

Tabela 9 - Diferenças (%) entre os valores de Constante térmica (K) estimados e observados, para *Tamarixia radiata* para as regiões citrícolas do estado de São Paulo estudadas

Estações	K Graus-Dias (GD)	Regiões				
		Limeira	Tatuí	Araraquara	Santa Cruz do Rio Pardo	Votuporanga
	Estimado	188,70*				
Primavera	Observado	183,50	192,00	200,80	200,80	181,70
	Diferença	-2,76	1,75	6,41	6,41	-3,71
Verão	Observado	197,80	210,40	210,40	210,40	179,30
	Diferença	4,82	11,50	11,50	11,50	-4,98
Outono	Observado	228,30	201,80	205,80	205,80	217,10
	Diferença	20,99	6,94	9,06	9,06	15,05
Inverno	Observado	192,50	240,60	190,80	190,80	188,50
	Diferença	2,01	27,50	1,11	1,11	-0,11

*Segundo Gomez-Torres et al. (2012).

Diniz (2013) validando o modelo proposto por Gomez-Torres (2009) para *T. radiata*, obteve um bom ajuste dos resultados nas condições de Piracicaba/SP, para o verão, porém, no inverno, foi obtida uma constante térmica de 252,78 GD, valor este, que difere em 49%, portanto, acima dos 15% aceitáveis para validação de um modelo (Figura 8). Se os resultados obtidos neste trabalho, para a cidade de Tatuí no inverno, forem comparados aos de Diniz (2013), ocorreria uma diferença de apenas 4,82 GD. Para as temperaturas simuladas de Limeira no outono e Tatuí no inverno, são necessários fatores de correção de 1,210 e 1,275, respectivamente.

Figura 8. Constante térmica (K) estimada e observada para *Tamarixia radiata* para as regiões citrícolas do estado de São Paulo. Linha sólida- constante térmica estimada segundo Gomez-Torres et al. (2012); linha pontilhada- limite de até 15% toleráveis.

A validação do modelo de exigências térmicas é fundamental, uma vez que a partir deste modelo, são realizados trabalhos de zoneamento agroclimático de pragas, como aquele feito por Gomez-Torres (2009) para *D. citri*. Tal validação permite uma maior acurácia no manejo de pragas, principalmente com liberação de inimigos naturais. Desta forma, é recomendável que se realize uma validação em diferentes condições climáticas, ou mesmo, que se proponham fatores de correção, como sugerido por Carvalho (2003).

Não foi verificada diferença entre os parâmetros biológicos, bem como nas exigências térmicas, de duas populações de *D. citri*, embora as mesmas fossem de origens geográficas distintas (NAVA et al., 2010); os autores atribuíram os resultados ao fato de embora distantes, as áreas pertencem à mesma região produtora de citros.

4.5 Suporte para tomada de decisão referente à liberação de *T. radiata* no estado de São Paulo com base no sistema de alerta de *D. citri* desenvolvido pelo FUNDECITRUS, levando-se em consideração as exigências térmicas de *D. citri*

Por meio da estimativa do momento adequado da liberação, verificou-se uma variação de 10 a 61 dias nas regiões avaliadas, ou seja, após o alerta, será no primeiro caso, esperada a migração do inseto e o desenvolvimento dos três primeiros ínstares que

correspondem a 10 dias; o mesmo se aplica para uma região mais fria, cujo período corresponde a 61 dias (Tabela 10). Tal cálculo se baseia no fato de que *T. radiata*, tem acentuada preferência por ninfas de 4º e 5º ínstars (GOMEZ-TORRES, 2009).

Tabela 10. Dias após o alerta fitossanitário do Fundo de Defesa da Citricultura ser acionado para realizar liberações de *Tamarixia radiata* em cinco regiões citrícolas do estado de São Paulo, com base nas exigências térmicas determinadas em temperaturas alternantes

Regiões	Estações			
	Primavera	Verão	Outono	Inverno
Avaré	18	12	24	61
Araraquara	16	12	15	36
Bebedouro	14	10	14	36
Casa Branca	16	18	24	31
Santa Cruz do Rio Pardo	16	12	15	39

No verão as liberações são estimadas entre 10 (Bebedouro) e 18 dias (Casa Branca), após a constatação do psílídeo nas armadilhas amarelas e existência de brotações, coincidindo, portanto, com o intervalo mais curto entre as liberações para as regiões mais quentes.

Na primavera, as variações extremas encontradas para liberação dos parasitoides são 14 (Bebedouro) a 18 dias (Avaré), após o alerta fitossanitário; no verão, de 10 (Bebedouro) a 18 dias (Casa Branca); no outono, de 14 (Bebedouro) a 24 dias (Avaré e Santa Cruz do Rio Pardo) e no inverno, de 31 (Casa Branca) a 61 dias (Avaré).

No ano de 2015, as regiões de Avaré e Santa Cruz do Rio Pardo foram os locais nos quais o alerta foi acionado o maior número de vezes, portanto, regiões que apresentaram altas densidades do psílídeo e, conseqüentemente, maior aplicação de agroquímicos (Figura 9). Em tais regiões, uma maior eficiência de parasitismo decorrente da liberação em épocas mais adequadas, pode contribuir para uma redução do uso de produtos fitossanitários, bem como uma menor chance de contaminação ambiental.

Figura 9 - Número de vezes em que o Alerta Fitossanitário do Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) foi acionado em 2014 e 2015

Com base nos dados do sistema de alerta fitossanitário, em 2015, nota-se que em todas as regiões o maior número de alertas observados, ocorre na primavera, seguido do verão e inverno (Figura 10), que coincide com a época de ocorrência de brotações.

O sistema não foi acionado no outono em nenhuma das regiões e tal fato indica uma baixa população do psílídeo nesta época, que pode ser decorrente de uma menor disponibilidade de brotações ou ainda da ação de fatores bióticos, como ação de *T. radiata*, uma vez que, de acordo com Diniz (2013), nesta estação é que foram verificados as maiores taxas de parasitismo. Estes resultados estão de acordo com a literatura, desde que, foi observado que o aumento populacional de *D. citri* ocorre no final da primavera e se estende durante o verão, período em que se têm temperaturas amenas a quentes, umidade relativa alta e, principalmente, fluxos vegetativos intensos. No período seco e frio (inverno) a população é baixa em relação ao período chuvoso (primavera/verão) (YAMAMOTO et al., 2001; COSTA et al., 2006).

Figura 10 - Regiões abrangidas pelo Sistema de Alerta Fitossanitário do Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) e meses em que o mesmo foi acionado no período de Janeiro de 2015 a Fevereiro de 2016

Estes resultados permitirão o uso mais eficiente do parasitoide *T. radiata*, aumentando a sua atuação como componente auxiliar ao sistema de alerta e ao Manejo Integrado dessa importante doença, o HLB, desde que validados em campo.

As liberações em pomares comerciais dependerão da utilização de produtos seletivos, podendo, no entanto, servir também para áreas adjacentes das áreas comerciais, onde se encontram os focos de contaminação do HLB.

5 CONCLUSÕES

O número de gerações de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), baseando-se em temperaturas alternantes, é comparável ao modelo desenvolvido em temperaturas constantes;

As variações existentes entre os dois modelos se deve à inclusão do período de pré-oviposição que é variável em função da temperatura, de 6,8 dias (combinação de 26 e 21 °C) a 31,4 dias (combinação de 20,5 e 16,0 °C);

A previsão do número de gerações, com base na constante térmica se ajusta mais a *T. radiata* do que a *D. citri*, sendo que para esta última o ajuste ocorre principalmente para o outono;

Uma geração de *D. citri* pode variar de 22,9 a 74,2 dias, respectivamente, no verão para as simulações de Votuporanga e no inverno para Tatuí;

Uma geração de *T. radiata* varia de 9,8 a 21,6 dias, respectivamente, no verão e inverno, para as simulações de Votuporanga e Tatuí;

A relação entre o número de gerações de *D. citri*: *T. radiata* no decorrer do ano é variável de 1: 2,34; 1: 2,28; 1: 2,47; 1: 2,58; 1: 2,28, respectivamente para as simulações de Votuporanga, Araraquara, Tatuí, Limeira e Santa Cruz do Rio Pardo;

Com base na regressão linear, o número de gerações de *D. citri* é melhor explicado pela média das temperaturas diurnas e noturnas, enquanto que, para *T. radiata* apenas pelas temperaturas noturnas;

Ajustes com fatores de correção são propostos para casos em que a constante térmica observada em temperaturas alternantes, supera 10-15% do valor determinado em laboratório;

De acordo com as exigências térmicas e biologia de *D. citri* o momento de liberação do parasitoide, *T. radiata*, no estado de São Paulo, é variável de acordo com a região e com a estação do ano, variando de 10 a 61 dias após o alerta fitossanitário ser acionado (coleta de psíldeo em armadilha adesiva amarela), coincidente com período de brotações dos citros;

O número de liberações de *T. radiata*, recomendadas de acordo com a estimativa proposta, tende a ser maior nas regiões mais quentes.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 18 jan 2016.
- FUNDECITRUS - Fundo de Defesa da citricultura- Alerta Fitossanitário. 2016. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/alerta-fitossanitario>>. Acesso em: 29 fev 2016.
- ALBRECHT, U.; BOWMAN, K.D. Tolerance of the Trifoliate Citrus Hybrid US-897 (*Citrus reticulata* Blanco x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) to Huanglongbing. **Hortscience**, Alexandria, v. 46, n. 1, p. 16-22, 2011.
- ALBRECHT, U.; BOWMAN, K.D. Tolerance of trifoliate citrus rootstock hybrids to *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 147, p. 71- 80, 2012.
- ALVES, G.R. **Relações tritróficas:** Variedades de Citros x *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) 2012. 69p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- ALVES, G.R.; DINIZ, A.J.F; PARRA. J.R.P. Biology of the huanglongbing vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on different host plants. **Journal of Economic Entomology**, Palo Alto, v. 107, p. 691–696, 2014.
- AUBERT, B. *Trioza erytrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v. 42, p. 149-162, 1987.
- ÁVILA, C.J.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em diferentes hospedeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.5, p.739-743, 2002.
- BELASQUE Jr., J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R.B.; BARBOSA, J.C.; FERNANDES, N.G.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; MACHADO, M.A.; LEITE Jr., R.P.; AYRES, A.J.; MASSARI, C.A. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 137-145, 2009.
- BELASQUE Jr, J.; BASSANEZI, R.B.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; TACHIBANA, A.; VIOLANTE, A.R.; TANK Jr, A.; GIORGI, F.; DI TERSI, F.E.A.; MENEZES, G.M.; DRAGONE, J.; JANK Jr, R.H.; BOVÉ, J.M. Lessons from huanglongbing management in São Paulo state, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 92, n. 2, p. 285-302, 2010.
- BELOTI, V.H; ALVES, G.R.; ARAÚJO, D.F.D.; PICOLI, M.M.; MORAL, R.A.; DEMÉTRIO, C.G.B.; YAMAMOTO, P.T. Lethal and Sublethal Effects of Insecticides Used on Citrus, on the Ectoparasitoid *Tamarixia radiata*. **PlosOne**, DOI:10.1371/journal.pone.0132128 July 1, 2015.

BERNAL, J.; GONZÁLEZ, D. Experimental assessment of a degree-day model for predicting the development of parasites in the field. **Journal of Applied Entomology**, Goettingen, v. 116, p. 459-466, 1993.

BIGLER, F. Mass production of *Trichogramma maidis* Pint et Voeg. and its field application against *Ostrinia nubilalis* Hbn. in Switzerland. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 101, p. 23-29. 1986.

BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 88, n. 1, p. 7-37, 2006.

BURCKHARDT, D.; OUVARD, D. A revised classification of the jumping plantlice (Hemiptera : Psyllodea). **Zootaxa**, Auckland, v. 3620, n. 1, p. 129-146, 2012.

BUTTLER JÚNIOR, G.D.; LOPEZ, J.D. *Trichogramma pretiosum*: Development in two hosts in relation to constant and fluctuating temperatures. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 73, p. 671-673, 1980.

CARVALHO, S.P.L. **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterson) (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2008. 58p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

CEN, Y.; YANG, C.; HOLFORD, P.; BEATTIE, G.A.C.; SPOONER-HART, R.N.; LIANG, G.; DENG, X. Feeding behaviour of the Asiatic citrus psyllid *Diaphorina citri*, on healthy and huanglongbing-infected citrus. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 143, n. 1, p. 13-22, 2012.

CEN, Y.; ZHANG, L.; XIA, Y.; GUO, J.; DENG, X.; ZHOU, W.; SEQUEIRA, R.; GAO, J.; WANG, Z.; YUE, J.; GAO, Y. Detection of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ in *Cacopsylla* (*Psylla*) *citrisuga* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 95, n. 2, p. 304-311, 2012.

CERMELI, M.; MORALES, P.; PEROZO, J.; GODOY, F. Distribución del psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera, Psyllidae) y presencia de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera, Eulophidae) en Venezuela. **Entomotropica**, Maracay, v. 22, n. 3, p. 181-184, 2007.

CHIEN, C.C. The role of parasitoids in the pest management of citrus psyllid. In: SYMPOSIUM: RESEARCH AND DEVELOPMENT OF CITRUS IN TAIWAN, 1995, Taichung. **Proceedings...** Taichung, 1995.p. 245-261.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I.; KU, H.C. Influence of food on longevity, egg production and population increase of the eulophid wasp *Tamarixia radiata*. **Plant Protection Bulletin**, Taichung, v. 36, p. 97-105, 1994.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Control Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. **Food and Fertilizer Technology Center**, Taipei, n. 47, p. 93-114, 1996.

CHIU, S.C.; AUBERT, B.; CHIEN, C.C. Attempts to Establish *Tetrastichus radiates* Waterston (Hymenoptera, Chalcidoidea), A Primary Parasite of *Diaphorina citri* Kuwayama in Taiwan. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 10, 1988. Riverside. **Proceedings...** Riverside: University of California, 1988. p. 265-268.

CHU, Y.I.; CHIEN, C.C. Utilization of natural enemies to control of psyllid vectors transmitting citrus greening. In: KIRITANI, K.; SU, H.J.; CHU, Y.I. (Ed.). **Integrated Control of Plant Virus Disease**. Taipei: Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, 1991, p.135-145.

CIVIDANES, F.J.; FIGUEIREDO, J.G. Previsão de ocorrência de picos populacionais de percevejos pragas da soja em condições de campo. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 517-525, 1997.

ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M. Modeling monthly mean air temperature for Brazil. **Theoretical and Applied Climatology**, Vienna, v. 110, p. 1–21, 2013.

COLETTA-FILHO, H.D.; TAKITA, M.A.; TARGON, M.L.P.N.; DE NEGRI, J.D.; POMPEU, J.; AMARAL, A.M.; MULLER, G.E.; MACHADO, M.A. First report of the causal agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 1382, 2004.

CÔNSOLI, F.L.; J.R.P. PARRA. Effect of constant and alternating temperatures on *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) biology. I. Development and thermal requirements. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 119, p. 415-418. 1995.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA (CDA). Disponível em: <<http://www.defesaagropecuaria.sp.gov.br/www/gdsv/index?action=dadosCitricultura> Paulista>. Acesso em: 15 mar. 2016.

COSTA LIMA, A.M. **Insetos do Brasil**, Homoptera. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia. 1942. 101p.

COSTA, M.G.; YAMAMOTO, P.T.; BARBOSA, J.C. Distribuição de Ninfas de *Diaphorina citri* em Árvores Cítricas. In: HUANGLONGBING GREENING WORKSHOP INTERNATIONAL, 2006. Ribeirão Preto, **Proceedings...** . Ribeirão Preto, 2006. p. 99.

DAMSTEEGT, V.D.; POSTNIKOVA, E.N.; STONE, A.L.; KUHLMANN, M.; WILSON, C.; SECHLER, A.; SCHAAD, N.W.; BRLANSKY, R.H.; SCHNEIDER, W.L. *Murraya paniculata* and Related Species as Potential Hosts and Inoculum Reservoirs of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', Causal Agent of Huanglongbing. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 5, p. 528-533, 2010.

DAVIS, P.; BRENES, N.; ALLEE, L.L. Temperature Dependent Models To Predict Regional Differences in Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) Phenology. **Environmental Entomology**, College Park. v. 25, n. 4, p. 767-775, 1996.

DINIZ, A.J.F. **Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo.** 2013. 130p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

EBRATT RAVELO, E.E.; GONZALEZ, L.T.R.; COSTA, V.A.; GOMEZ, E.M.Z.; AVILA, A.P.C.; GALINDO, M.Y.S. Primer registro de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) en Colombia. **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, Cali, v. 64, n. 2, p. 6141-6146, 2011.

ETIENNE, J.; AUBERT, B. Biological control of psyllid vectors of greening disease on Reunion Island. In: CONFERENCE OF THE IOCV, 8., 1980. Riverside . **Proceedings...** Riverside: University of California, 1980. p. 118-121.

ETIENNE, J.; QUILICI, S.; MARVIVAL, D.; FRANCK, A. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Fruits**, Paris, v. 56, p. 307-315, 2001.

FAUVERGUE, X.; QUILICI, S. Etude de certains paramètres de la biologie de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), ectoparasitoide primaire de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) vecteur asiatique du greening des agrumes. **Fruits**, Paris, v. 46, n. 2, p. 179-185, 1991.

FERRARI, B **Efeitos letais e subletais de inseticidas sobre *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae).** 2009. 77p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

FERREIRA, R.V. **Influência do tipo de controle de Huanglongbing em áreas citrícolas na dispersão de *Diaphorina citri* e na disseminação da doença para pomares próximos.** 2014. 71p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) - Fundo De Defesa Da Citricultura, Araraquara, 2014.

FLETCHER, B.S. Temperature-development rate relationships of the immature stages and adults of Tephritid fruit flies. In: ROBSON, A.S.; HOOPER, G. (Ed.). **Fruit flies: their biology natural enemies and control.** New York: Elsevier Science Publisher, 1989. p. 209-232.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **AGRIANUAL 2015. 1:** Anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2009. 520p.

FOLIMONOVA, S.Y.; ROBERTSON, C.J.; GARNSEY, S.M.; GOWDA, S.; DAWSON, W.O. Examination of the Responses of Different Genotypes of Citrus to Huanglongbing (Citrus Greening) Under Different Conditions. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 99, n. 12, p. 1346-1354, 2009.

FUNDECITRUS. 2016. Disponível em: [http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Greening-\(HLB\)](http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Greening-(HLB)), 35. Acesso em 07 mar2016.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C. de.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**, Piracicaba: Fealq, 2002. 920p.

GARNIER, M.; DANIEL, N.; BOVÉ, J.M. The greening organism is a gram negative bacterium. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 9., 1984. Riverside. **Proceedings...** Riverside: University of California, 1984. p.115-124.

GARNIER, M.; BOVÉ, J.M.; CRONJE, C.P.R.; SANDERS, G.M.; KORSTEN, L. LE ROUX, H.F. Presence of “*Candidatus Liberibacter africanus*” in the Western Cape province of South Africa. In: CONFERENCE OF INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 14., 2000. Riverside. **Proceedings...** Riverside: University of California, 2000. p. 369-372.

GASPAROTO, M.C.G.; BASSANEZI, R.B.; AMORIM, L.; MONTESINO, L.H.; LOURENÇO, S.A.; WULFF, N.A.; TEIXEIRA, D.; MARIANO, A.G.; MARTINS, E. First report of '*Candidatus Liberibacter americanus*' transmission from *Murraya paniculata* to sweet orange by *Diaphorina citri*. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 92, n. 2, p. 543, 2010.

GASPAROTO, M.C.G.; COLETTA-FILHO, H.D.; BASSANEZI, R.B.; LOPES, S.A.; LOURENÇO, S.A.; AMORIM, L. Influence of temperature on infection and establishment of '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in citrus plants. **Plant Pathology**, Chichester, v. 61, n. 4, p. 658-664, 2012.

GAVARRA, M.R.; MERCADO, B.G.; GONZALES, C.I. Progress Report: *D. citri* Trapping, identification of parasite and possible field establishment of the imported parasite, *Tamarixia radiata* in the Philippines. In: INTERNATIONAL ASIA PACIFIC CONFERENCE ON CITRUS REHABILITATION, 4., 1990, Chiang Mai. **Proceedings...** Chiang Mai: FAO-UNDP, 1990. p. 246-250.

GOMEZ-TORES, M.L.; NAVA, D.E.; GRAVENA, S.; COSTA, V.A.; PARRA, J.R.P. Registro de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* Kuwayama Hemiptera: Psyllidae) em São Paulo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 81, p. 112-117, 2006.

GOMEZ-TORRES, M.L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae).** 2009. 138p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GOMEZ-TORRES, M.L.; NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Life Table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at Different Temperatures. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 105, n. 2, p. 338- 343, 2012.

GONZALEZ, P.; REYES-DE-CORCUERA, J.; ETXEBERRIA, E. Characterization of leaf starch from HLB-affected and unaffected-girdled citrus trees. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 79, p. 71-78, 2012.

GOTELLI, N. J.; ELLISON, A. M. A primer of ecological statistics. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates Publishers. 2004.

GOTTWALD, T.R.; DA GRAÇA, J.V.; BASSANEZI, R.B. Citrus Huanglongbing: The pathogen and its impact. **Plant Health Progress**, Saint Paul, v. 8, p. 1-36, 2007.

GOTTWALD, T.R. Current Epidemiological understanding of citrus huanglongbing. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 48, p. 119-139. 2010.

GRAÇA, J.V. Citrus Greening Disease. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 29, p. 109-136, 1991.

GRAFTON-CARDWELL, E.; STELINSKI, L.L.; STANSLY, P.A. Biology and management of asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 58, p. 413-432, 2013.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P.; MORAES, R.C. Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos. Piracicaba:FEALQ, 1999. 29 p.

HALBERT, S.E. The Discovery of huanglongbing in Florida. In: INTERNATIONAL CITRUS CANKER AND HUANGLONGBING RESEARCH WORKSHOP, 4., 2005. Orlando. **Proceedings...** Orlando: Florida Citrus Mutual, 2005. p. 50.

HALBERT, S.E.; MANJUNATH, K.L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 87, n. 3, p. 330-353, 2004.

HALBERT, S.E.; MANJUNATH, K.L.; RAMADUGU, C.; BRODIE, M.W.; WEBB, S.E.; LEE, R.F. Trailers transporting oranges to processing plants move Asian Citrus psyllids. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 93, n. 1, p. 33-38, 2010.

HALL, D.G.; HENTZ, M.G. Seasonal flight activity by the asian citrus psyllid in east central Florida. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 139, n. 1, p. 75-85, 2011.

HALL, D.G.; McCOLLUM, G. Survival of adult asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) on harvested citrus fruit and leave. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 94, n. 4, p. 1094-1096, 2011.

HALL, D.G.; NGUYEN, R. Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid. **BioControl**, Dordrecht, v. 55, n. 5, p. 601-611, 2010.

HALL, D.G.; RICHARDSON, M.L.; AMMAR, E.D, HALBERT, S.E. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), vector of citrus huanglongbing disease. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 146, p. 207-223, 2013.

- HALL, D.G.; WENNINGER, E.J.; HENTZ, M.G. Temperature studies with the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: Cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 11, p. 1-15, 2011.
- HAMADA, E.; MORANDI, M.A.B.; TAMBASCO, F.J.; PEREIRA, D.A.; EVANGELISTA, S.R.M. 2007 Estimativa de áreas favoráveis à ocorrência da *Diaphorina citri* (vetor do greening asiático) no Estado de São Paulo. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. Disponível em: <http://www.cenargen.embrapa.br/publica/trabalhos/cot058.pdf>. Acesso em: 5 jan. 2016.
- HARRISON, W.W.; KING, E.G.; OUZTS, J.D. Development of *Trichogramma exiguum* and *T. pretiosum* at five temperature regimes. **Environmental Entomology**, College Park, v. 14, p. 118-121, 1985.
- HARTUNG, J.S.; HALBERT, S.E.; PELZ-STELINSKI, K.; BRLANSKY, R.H.; CHEN, C.; GMITTER, F.G. Lack of Evidence for Transmission of ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ Through Citrus Seed Taken from Affected Fruit. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 10, p. 1200-1205, 2010.
- HIGLEY, L.G.; PEDIGO, L.P.; OSTLIE, K.R. DEGDAY: a program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree-day approach. **Environmental Entomology**, College Park, v. 15, p. 999-1016, 1986.
- HODDLE, M.S. Foreign exploration for natural enemies of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), in the Punjab of Pakistan for use in a classical biological control program in California USA. **Pakistan Entomologist**, Faisalabad, v. 34, n. 1, p. 1-5, 2012.
- HOY, M.; NGUYEN, R.; JEYAPRAKASH, A. **Classical Biological Control of Asian Citrus Psyllid in Florida**. Disponível em: <<http://ipm.ifas.ufl.edu/agriculture/citrus/psyllid.shtml>>. Acesso em: 2 dez. 2015.
- HOWE, R.W. Temperature effects on embryonic development in insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 12, p. 15- 42, 1967.
- ICHINOSE, K.; NGUYEN V.H.; BANG, D.V.; TUAN, D.H.; DIEN, L.Q. Limited efficacy of guava interplanting on citrus greening disease: Effectiveness of protection against disease invasion breaks down after one year. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 34, p. 119-126, 2012.
- IKEDA, K.; ASHIHARA, W. Preference of adult asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) for *Murraya paniculata* and *Citrus unshiu*. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 52, n. 1, p. 27-30, 2008.
- INOUE, H.; IHONISHI, J.; ITO, T.; TOMIMURA, K.; MYATA, S.; IWANAMI, T.; ASHIHARA, W. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. **Annals of Applied Biology**, Tokio, v.155, p. 29-36, 2009.
- JAGOEIX, S.; BOVÉ, J.; GARNIER, M. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the Proteobacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 44, p. 379-386, 1994.

KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E. A. **Manual de Fitopatologia**, Piracicaba: Ceres, 2005. 663p.

KING, E.G.; D.L.; BOUSE, L.R.; PHILLIPS, J.R. Introduction: biological control of *Heliothis* spp. In cotton by augmentative releases of *Trichogramma*. **Southwest Entomology**, Oklahoma, v.8, p. 1-10, 1985.

KOBORI, Y.; NAKATA, T.; OHTO, Y. Estimation of Dispersal Pattern of Adult Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 55, n. 3, p. 177-181, 2011.

KOBORI, Y.; NAKATA, T.; OHTO, Y.; TAKASU, F. Dispersal of adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the vector of citrus greening disease, in artificial release experiments. **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 46, n. 1, p. 27-30, 2010.

KOH, E.; ZHOU, L.; WILLIAMS, D.S.; PARK, J.; DING, N.; DUAN, Y.; KANG, B. Callose deposition in the phloem plasmodesmata and inhibition of phloem transport in citrus leaves infected with “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” **Protoplasma**, Viena, v. 249, p. 687-697, 2012.

LAMA, T.K.; REGMI, C.; AUBERT, B. Distribution of citrus greening disease vector (*Diaphorina citri* Kuw.) in Nepal and attempts to establish biological control. In: CONFERENCE OF THE IOCV, 10., 1988, Valencia. **Proceedings...** Riverside: IOCV, 1988. p. 255-257.

LEAL, R.M.; BARBOSA, J.C.; COSTA, M.G.; BELASQUE Jr., J.; YAMAMOTO, P.T.; DRAGONE, J. Distribuição espacial de huanglongbing (greening) em citros utilizando a geoestatística. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 808- 818, 2010.

LEWIS-ROSENBLUM, H.; MARTINI, X.; TIWARI, S.; STELINSKI, L.L. Seasonal Movement Patterns and Long-Range Dispersal of Asian Citrus Psyllid in Florida Citrus. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 108, p. 3-10. 2015.

LIU, Y.H.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 137, p. 201-206, 2000.

LIZONDO, M.; GASTAMINZA, G.; COSTA, A.; AUGER, L.; GOMÉZ, M.; WILLINK, M.; PARRA, J. Records of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Northwestern Argentina. **Revista Industrial y Agrícola de Tucumán**, Tucumán, v. 84, n. 1, p. 21-22, 2007.

LOPES, S.A.; FRARE, G.F.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; BARBOSA, J.C. Ineffectiveness of pruning to control citrus huanglongbing caused by *Candidatus Liberibacter americanus*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 119, p. 463-468, 2007.

LOPES, S.A.; BERTOLINI, E.; FRARE, E.C.; MARTINS, E. C.; WULFF, N.A.; TEIXEIRA, D.C.; FERNANDES, N.G.; CAMBRA, M. Graft transmission efficiencies and

multiplication of ‘*Candidatus Liberibacter americanus*’ and ‘*Ca. Liberibacter asiaticus*’ in citrus plants. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 99, n. 3, p.301-306, 2008.

LOPES, S.A.; FRARE, G.F.; BERTOLINI, E.; CAMBRA, M.; FERNANDES, N.G.; AYRES, A.J.; MARIN, D.R.; BOVÉ, J.M. Liberibacters associated with citrus Huanglongbing in Brazil: ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ is heat tolerant, ‘*Ca. L. americanus*’ is heat sensitive. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 93, n. 3, p. 257-262, 2009.

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

MEAD, F.W.; FASULO, T.R. **Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae)**, Gainesville: University of Florida, 2011. 8p. (IFAS Extension, 33).

MEYER, S.J; PETERSON, R.K.D. Predicting movement of stalk borer (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in corn. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 17, p. 609-612, 1998.

MEYER, J.M.; HOY, M.A.; BOUCIAS, D.C. Isolation and characterization of an *Isaria fumosorosea* isolate infecting the asian citrus psyllid in Florida. **Journal of Invertebrate Pathology**, Maryland Heights, v. 99, p. 96-102, 2008.

MICHAUD, J.P. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllid) in central Florida. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 29, p. 260-269, 2004.

MILANEZ, J.M.; PARRA, J.R.P. Biologia e exigências térmicas de *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae) em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.29, n.1, p.23-29, 2000.

NAKATA, T. Temperature-dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of this spread based on overwintering in the nymphal stage in temperature regions of Japan. **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 41, n. 3, p. 383-387, 2006.

NAVA, D.E.; GOMEZ-TORRES, M.L.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 131, p. 9-10, 2007.

NAVA, D.E.; SILVA, E.S.; GUIMARÃES, J.A.; DIEZ-RODRIGUEZ, G.I.; GARCIA, M.S.; BATISTA FILHO, A.; LEITE, L.G.; RAGA, A.; SATO, M.E. Controle biológico de pragas das frutíferas. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E; ROSSI, M.M.; MALERBO SOUZA, D.T. (Ed.). **Controle biológico de pragas na prática**. Barueri: Prol Editora, 2006. p. 113-129.

NAVA, D.E.; TORRES, M.L.G.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. The effects of host, geographic origin, and gender on the thermal requirements of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 39, n. 2, p. 678-684, 2010.

NORONHA Jr., N.C. Efeito dos coespecíficos e voláteis das plantas *Murraya paniculata* (L.) Jack, *Psidium guajava* L. e *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sobre o comportamento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). 2010. 67p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

NOLDUS, L.P.J.J. Semiochemicals, foraging behaviour and quality of entomophagus insects for biological control. **Journal of Applied Entomology**, College Park, v. 108, p. 425-451, 1989.

NURHADI. F. Integrated approaches to formulate control measure against greening vector, *Diaphorina citri* Kuw. in Indonesia. In: FAO-UNDP REGIONAL WORKSHOP ON THE ASIAN-PACIFIC CITRUS GREENING DISEASE, 2., 1989, Lipa. **Proceedings ...** Roma: UNDP-FAO, 1989. p. 47-49.

ORDUÑO-CRUZ, N.; GUZMÁN-FRANCO, A.W.; RODRÍGUEZ-LEYVA, E.; ALATORRE-ROSAS, R.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, H.; MORA-AGUILERA, G. In vivo selection of entomopathogenic fungal isolates for control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Biological Control**, Maryland Heights, v. 90, p. 1-5, 2015.

ONAGBOLA, E.O.; BOINA, D.R.; HERMANN, S.L.; STELINSKI, L.L. Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Annals of Entomological Society of America**, Lanham, v. 102, p. 523-531, 2009.

ONAGBOLA, E.O.; ROUSEFF, R.L.; SMOOT, J.M.; STELINSKI, L.L. Guava leaf volatiles and dimethyl disulphide inhibit response of *Diaphorina citri* Kuwayama to host plant volatiles. **Journal of Applied Entomology**, Gottinghen, v. 135, p. 404–414, 2011.

PADULLA, L.F.L.; ALVES, S.B. Suscetibilidade de ninfas de *Diaphorina citri* a fungos entomopatogênicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, p. 297-302, 2009.

PAIVA, P.E.B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo.** 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PAIVA, P.E.B.; PARRA, J.R.P. Life table analysis of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) infesting sweet orange (*Citrus sinensis*) in São Paulo. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 95, n. 2, p. 278-284, 2012.

PANDE, Y.U. Biology of Citrus Psylla *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae). **Israel Journal of Entomology**, Bet Dagan, v. 6, p. 307-311, 1971.

PARRA, J.R.P. Biologia comparada de *Perileucoptera coffeella* visando ao seu zoneamento ecológico no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 14, p. 45 – 73, 1985.

PARRA, J.R.P.; GÓMEZ-TORRES, M.L.; PAIVA, P.E.B. Eficiência do parasitóide para o

controle do psíldeo *Diaphorina citri* em São Paulo. **Citricultura atual**, Cordeirópolis, p. 18 - 19, 2007.

PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; GOMEZ-TORRES, M.L.; NAVA, D.E.; PAIVA, P.E.B. Bioecologia do vetor *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao Huanglongbing. **Citrus Research and Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 37- 51, 2010.

PARRA, J.R.P.; ALVES, G. R.; DINIZ, A.J.F.; VIEIRA, J.M. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): Mass Rearing and Potential Use of the Parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, Anapolis, v. 7, n. 1, p. 1–11. 2016.

PELZ-STELINSKI, K.S.; BRLANSKY, R.H.; ROGERS, M.E. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 5, p. 1531-1541, 2010.

PEREIRA, F.M.V.; MILORI, D.M.B.P.; PEREIRA-FILHO, E.R.; VENÂNCIO, A.L.; RUSSO, M.S.T.; CARDINALI, M.C.B.; MARTINS, P.K.; FREITAS-ASTÚA, J. Laser induced fluorescence imaging method to monitor citrus greening disease. **Computers and Eletronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 90-93, 2011.

PETERSON, R.K.D.; MEYER, S.J. Relating degree-day accumulations to calendar dates: alfalfa weevil egg hatch in the north central United States. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 24, p. 1404-1408, 1995.

PLOTTO, A.; BALDWIN, E.; MCCOLLUM, G.; MANTHEY, J.; NARCISO, J.; IREY, M. Effect of *Liberibacter* Infection (Huanglongbing or “Greening” Disease) of Citrus on Orange Juice Flavor Quality by Sensory Evaluation. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 75, n. 4, p. 220-230, 2010.

PLUKE, R.W.; QURESHI, J.A.; STANSLY, P.A. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 91, n. 1, p. 36-42, 2008.

QING, T.Y. On the parasite complex of *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in Asian-Pacific and other areas. In: INTERNATIONAL ASIA PACIFIC CONFERENCE ON CITRUS REHABILITATION, 1990, Chiang Mai. **Proceedings...** Chiang Mai: Fao-Undp, 1990, p. 240-244.

QUILICI, S.; JOULAIN, H.; MANIKOM, R. Étude de la fécondité de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera : Eulophidae), ectoparasitoïde primaire du psylle asiatique Kuwayama (Homoptera : Psyllidae), vecteur du greening des agrumes. **Fruits**, Paris, v. 47, p. 184–194, 1992.

QURESHI, J.A.; STANSLY, P.A. Dormant season foliar sprays of broad-spectrum insecticides: An effective component of integrated management for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus orchards. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 29, n. 8, p. 860-866, 2010.

- ROGERS, M.E.; STANSLY, P.A. Biology and management of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, in Florida Citrus. **Ifas Extension**, 7p. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN668>. Acesso em: 25 jul 2014.
- ROSALES, R.; BURNS, J.K. Phytohormone Changes and Carbohydrate Status in Sweet Orange Fruit from Huanglongbing-infected Trees. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 30, n. 3, p. 312-321, 2011.
- SALVADORI, J.R.; PARRA, J.R.P. Seleção de dietas artificiais para *Pseudaletia sequax* (Lep.: Noctuidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 12, p. 1701-1713, 1990.
- SANKARAN, S.; MISHRA, A.; MAJA, J.M.; EHSANI, R. Visible-near infrared spectroscopy for detection of Huanglongbing in citrus orchards. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 127-134, 2011.
- SANTOS, M.S.; ZANARDI, O.Z.; PAULI, K.S.; FORIM, M.R.; YAMAMOTO, P.T.; VENDRAMIM, J.D. Toxicity of an azadirachtin-based biopesticide on *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) and its ectoparasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). **Crop Protection**, Amsterdam, v.74. p. 116-123, 2015.
- SECHLER, A.; SCHUENZEL, E.L.; COOKE, P.; DONNUA, S.; THAVEECHAI, N.; POSTNIKOVA, E.; STONE, A.L.; SCHNEIDER, W.L.; DAMSTEEGT, V.D.; SCHAAD, N.W. Cultivation of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”, “*Ca. L. africanus*”, and “*Ca. L. americanus*” Associated with Huanglongbing. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 99, n. 5, p. 480-486, 2009.
- SÉTAMOU, M.; SANCHEZ, A.; PATT, J.M.; NELSON, S.D.; JIFON, J.; LOUZADA, E.S. Diurnal Patterns of Flight Activity and Effects of Light on Host Finding Behavior of the Asian Citrus Psyllid. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 25, n. 3, p. 264-276, 2012.
- SHIVANKAR, V.J.; RAO, C.N.; SINGH, S. Studies on citrus Psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama: a review. **Agricultural Reviews**, Karnal, v. 21, p. 199-204, 2000.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1976. 419p
- SKELLEY, L.H.; HOY, M.A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, Orlando, v. 29, p. 14-23, 2004.
- STERN, V.M.; BOWEN, W. Ecological studies of *Trichogramma semifumatum* with notes on *Apanteles medicaginis*, and their suppression of *Colias eurytheme* in Southern California. **Annals of the Entomological Society of America**, Columbus, v. 56, p.358-372. 1963.
- TAYLOR, G.S. The structure of the eggs of some Australian Psylloidea (Hemiptera). **Journal of Australian Entomological Society**, Richmond, v. 31, p. 109-117, 1992.
- TECK, S.L.C.; FATIMAH, A.; BEATTIE, A.; HENG, R.K.J.; KING, W.S. Influence of host plant species and flush growth stage on the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama.

American Journal of Agricultural and Biological Sciences, New York, v. 6, n. 4, p. 536-543, 2011.

TEIXEIRA, D.C.; AYRES, A.J.; KITAJIMA, E.W.; TANAKA, F.A.O.; DANET, J.L.; JAGOUÉIX-EVEILLARD S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J.M. First report of a huanglongbing-like disease of citrus in Sao Paulo State, Brazil, and association of a new liberibacter species, *Candidatus Liberibacter americanus*, with the disease. **Plant Disease**, Dordrecht, v. 89, p. 107, 2005.

TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A.; MARTINS, E.C.; KITAJIMA, E.W.; BASSANEZI, R.; AYRES, A.J.; EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J.M. A Phytoplasma closely related to the pigeon pea witches'-broom phytoplasma (16Sr IX) is associated with citrus huanglongbing symptoms in state of São Paulo, Brazil. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 98, n. 9, p.977-984, 2008.

TIWARI, S.; MANN, R.S.; ROGERS, M.E.; STELINSKI, L.L. Insecticide resistance in field populations of asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, Chichester, v. 67, n. 10, p. 1258-1268, 2011.

UECHI, N.; IWANAMI, T. Comparison of the ovarian development in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in relation to the leaf age of orange jasmine, *Murraya paniculata* (L.) Jack. **Bulletin of the National Institute of Fruit Tree Science**, Ibaraki, v. 13, n. 39, p. 39-42, 2012.

VANGANSBEKE, D.; AUDENAERT, J.; DUC TUNG, N.; VERHOEVEN, R.; GOBIN, B.; TIRRY, L.; DE CLERCQ, P. Diurnal temperature variations affect development of a herbivorous arthropod pest and its predators. **PLoS One** 10: e0124898. 2015.

WALTER, A.J.; HALL, D.; DUAN, Y.P. Low Incidence of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in *Murraya paniculata* and Associated *Diaphorina citri*. **Plant Disease**, Dordrecht, v. 96, n. 6, p. 827-832, 2012.

WENNINGER, E.J.; HALL, D.G. Importance of multiple mating to female reproductive output in *Diaphorina citri*. **Physiological Entomology**, London, v. 33, n. 4, p. 316- 321, 2008.

WESTBROOK, C.J.; HALL, D.G.; STOVER, E.; DUAN, Y.P. Colonization of citrus related germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Hortscience**, Alexandria, v. 46, n. 7, p. 997-1005, 2011.

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

YAMAMOTO, P.T.; FELIPPE, M.R.; GARBIM, L.F; COELHO, J.H.C.; XIMENES, N.L.; MARTINS, E.C.; LEITE, A.P.R.; SOUSA M.C.; ABRAHÃO D.P.; BRAZ, J.D. 2006. *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae): vetor da bacteria *Candidatus Liberibacter americanus*. In: Proceedings of the Huanglongbing - greening International Workshop, 1., Ribeirão Preto: Fundecitrus, 2006. p.96.

YANG, Y.; HUANG, M.; BEATTIE, G. A. C.; XIA, Y.; OUYANG, G.; XIONG, J.
Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: A status report for China. **International Journal of Pest Management**, Oxfordshire, v. 52, n. 4, p. 343-352, 2006.

ZAKA, S.M.; ZENG, X.N.; HOLFORD, P.; BEATTIE, G.A.C. Repellent effects of guava leaf volatiles on settlement of adults of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. **Insect Science**, Chichester, v. 17, n. 1, p. 39-45, 2010.