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

**Relações tritróficas: Variedades de Citros x *Diaphorina citri*
Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata*
(Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)**

Gustavo Rodrigues Alves

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2012**

Gustavo Rodrigues Alves
Licenciado em Ciências Biológicas

**Relações tritróficas: Variedades de Citros x *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera:
Eulophidae)**

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

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Entomologia

**Piracicaba
2012**

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

Alves, Gustavo Rodrigues

Relações tritróficas: Variedades de Citros x *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) /
Gustavo Rodrigues Alves.- - Piracicaba, 2012.
69 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Citros 2. Controle biológico 3. Insetos parasitóides 4. Greening (Doença de planta)
5. Murta 6. Psílideo 7. Variedades vegetais I. Título

CDD 595.79
A474r

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

A Deus pelo dom da vida

Agradeço

Aos meus queridos pais, Adilson e Solange por
todo amor e carinho , aos meus sobrinhos
Gean e Benício pelo carinho e momentos de
alegria proporcionados.

Dedico

A minha noiva Juliana Longatto por todo
amor, paciência e companheirismo.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Parra pela confiança depositada em mim desde a época de estágio, por sua dedicação como orientador e principalmente pelo grande exemplo de pesquisador e pessoa;

A Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e em especial ao Departamento de Entomologia e Acarologia ESALQ/USP por toda a infraestrutura fornecida;

Aos professores do Departamento de Entomologia e Acarologia ESALQ/USP, pelos ensinamentos;

Ao Prof. Sinval pela enorme dedicação e ajuda com os dados da Tabela de vida e ao Prof. Pedro Yamamoto o qual muitas vezes recorri

Ao Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) pela concessão da bolsa de estudos;

Ao Vitor Cicolin e todo o pessoal da Horticitrus, pela doação das mudas cítricas utilizadas nesse trabalho, pela excelente postura profissional e por estarem sempre dispostos a ajudar;

A funcionária Neide Zério por todo auxílio, respeito e ao café de todos esses anos;

A todos os funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia ESALQ/USP, pela dedicação aos serviços prestados, em especial aos funcionários Dino e Carlos;

A Dra. Marinéia Haddad pelo auxílio com as análises estatísticas;

Aos meus grandes amigos Alexandre, Aloísio e Leandro pela valiosa ajuda, conselhos, respeito, e ainda, pelos nossos momentos de discussão, nos quais já rimos, mas também dividimos angústias;

As meninas do grupo “Diaphorix”, Jaci Vieira, Angela Lima, Adriana Nascimento e pelas futuras biólogas Ellen A, Ellen G e Laís, pela valiosa ajuda, convívio e amizade.

Todos os meus amigos da pós-graduação, pelo convívio, troca de experiências, companheirismo, pelos momentos de alegria, churrascos, ou simplesmente por compartilhar um cafezinho, em especial a Aline Peruchi, Arthur Tomaseto, Diogo Araújo, Elisangela Lopes, Fábio Dossi, Fernanda Muller, Gabriel Rugno, Johana Bajonero, Luis Gustavo, Luiz Mota, Franciele Santos, Rízia Andrade, Vitor Beloti e Talita Silveira;

A todos os amigos e colegas que são ou foram e “agregados” do Laboratório de Biologia de Insetos ESALQ/USP, Alexandre Begiato, Alexandre Sene, Aline Bertin, Aline Rocha, Ana Lia, Arodí, Augustin, Cristina, Eliane Grisoto, Guilherme, Janice, Marina, Patricia Milano e Sandra Magro, pelo convívio e amizade;

Aos meus queridos amigos Esquerdinha, Maura, Paula, Tati, Bob, Andrine e Xandão pela amizade, confiança e incentivo;

Aos meus grandes amigos de “infância”, vulgo “povo de Santa Terezinha” com os quais vivi alguns dos melhores momentos da minha vida;

A minha primeira orientadora, Kayna Agostini pelo entusiasmo e incentivo;

A todos os meus parentes pela compreensão da ausência nas reuniões familiares nesses últimos anos e também a minha tia “Tutinha” a qual hoje, não tenho mais o prazer de sua presença, mais que sempre me incentivou;

E a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho;

“Disciplinando-se e vencendo a si mesmo, o homem consegue agigantar-se, logrando resultados expressivos e valiosos. Essas realizações, no entanto, têm início nele próprio.” Joanna de Ângelis.

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
LISTA DE FIGURAS.....	15
LISTA DE TABELAS.....	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Huanglongbing (HLB).....	21
2.2 Aspectos biológicos de <i>D. citri</i>	24
2.3 Inimigos naturais de <i>D. citri</i>	27
2.4 Variedades comerciais de citros.....	31
2.5 Relações tritróficas e o controle biológico.....	32
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1 Criação de manutenção de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae).....	35
3.2 Criação de manutenção de <i>T. radiata</i>	35
3.3 Manutenção de mudas cítricas e de murta.....	37
3.4 Influência da variedade de citros sobre a alimentação e fertilidade de <i>D. citri</i>	37
3.4.1 Teste de livre escolha.....	37
3.4.2 Teste de oviposição sem chance de escolha.....	38
3.5 Biologia de <i>D. citri</i> em diferentes hospedeiros.....	38
3.6 Influência de variedades de citros sobre o parasitismo de <i>T. radiata</i>	40
3.6.1 Teste de preferência de parasitismo com chance de escolha.....	40
3.7 Biologia de <i>T. radiata</i> sobre <i>D. citri</i> criadas em diferentes hospedeiros.....	40
3.8 Análise estatística.....	41
4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	43
4.1 Influência da variedade de citros sobre a alimentação e fertilidade de <i>D. citri</i>	43
4.1.1 Teste de livre escolha.....	43
4.1.2 Teste de oviposição sem chance de escolha.....	45
4.2 Biologia de <i>D. citri</i> em diferentes hospedeiros.....	47
4.3 Influência de variedades de citros sobre o parasitismo de <i>T. radiata</i>	55
4.3.1 Teste de preferência de parasitismo com chance de escolha.....	55
4.4 Biologia de <i>T. radiata</i> sobre <i>D. citri</i> criadas em diferentes hospedeiros.....	56

5 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS	61

RESUMO

Relações tritróficas: Variedades de Citros x *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência de variedades comerciais de citros e de murta no desenvolvimento de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 e a preferência do parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) sobre o referido psíldeo, criado em diferentes variedades cítricas e na murta, por meio de estudos biológicos e comportamentais, para definir estratégias de controle da praga em programas de MIP em citros. Foram realizados testes de livre escolha e confinamento (sem chance de escolha) para avaliar o efeito de variedades de citros sobre a alimentação e fertilidade de *D. citri*, bem como a biologia da referida espécie de psíldeo em diferentes hospedeiros. Avaliou-se ainda o efeito da variedade de citros sobre o parasitismo de *T. radiata*, bem como sua biologia em *D. citri* criado em diferentes hospedeiros. Pode-se concluir que: *D. citri* preferiu ovipositar e se alimentar, em teste de livre escolha, em 'Natal', sendo que no teste de confinamento (sem chance de escolha) a oviposição foi semelhante em 'Natal', 'Valência' e 'Pêra'. Em ambos os tipos de teste, 'Hamlin' foi a menos adequada para *D. citri*. Com base nos demais parâmetros biológicos avaliados, a análise de agrupamento separou os hospedeiros em três grupos distintos, sendo 'Valência' e murta os hospedeiros mais adequados ao desenvolvimento de *D. citri*. No segundo grupo ('Natal', 'Pêra' e 'Ponkan') concentraram-se as variedades que proporcionaram um desenvolvimento intermediário ao psíldeo, sendo 'Hamlin' a menos adequada ao desenvolvimento do inseto. Com base na tabela de vida de fertilidade, a taxa líquida de reprodução (R_0) de *D. citri* foi 2,5 vezes maior quando criado em 'Valência' em relação a 'Hamlin'. Os demais parâmetros (T , λ e r_m) também favoreceram o inseto quando criado em 'Valência'. Os hospedeiros estudados não afetaram o parasitismo e desenvolvimento de *T. radiata* sobre *D. citri*. Os resultados obtidos poderão fornecer subsídios ao planejamento do plantio de variedades de citros em pomares novos com vistas à incidência e manejo do HLB.

Palavras-chave: Psíldeo; Variedades cítricas; HLB; Controle biológico

ABSTRACT

Tritrophic Relationships: Citrus varieties x *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) x *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)

This research's aim was to evaluate the influence of commercial citrus varieties and orange jessamine on the development of *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 and the parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) preference on the Asian Citrus Psyllid (ACP), reared on different citrus varieties and on orange jessamine, by the means of biological and behavioral studies, in order to establish strategies of pest control in Integrated Pest Management (IPM) citrus programs. Free-choice and no-choice tests were carried out to evaluate the citrus varieties effects on the feeding and fertility of *D. citri*, as well as the biology of this psyllid species on different hosts. It was evaluated the citrus variety effect on the *T. radiata* parasitization, as well as its biology with *D. citri* reared on different hosts. It can be concluded that: *D. citri* preferred laying eggs and feeding, in free-choice tests, on 'Natal', while in the no-choice test, the laying-eggs behavior was the same on 'Natal', 'Valência' and 'Pêra'. In the both tests, 'Hamlin' was the least suitable for *D. citri*. According to the other biological characteristics evaluated, the grouping analysis identified 3 different groups, being 'Valência' and orange jessamine the best hosts for *D. citri* development. In the second group ('Natal', 'Pêra' e 'Ponkan') are the varieties that provided a reasonable development to the psyllid, being 'Hamlin' the least suitable for the insect development. According to the fertility life table, the reproduction net rate (R_o) of *D. citri* was 2,5 times bigger if reared on 'Valência' compared to 'Hamlin'. The other life table parameters (T , λ e r_m) also supported the results when it was reared on 'Valência'. The studied hosts did not affect the parasitization and the development of *T. radiata* on *D. citri*. The results obtained will provide information for planting planning of citrus varieties in new groves considering the HLB incidence and management.

Keywords: Psyllid (ACP); Citrus varieties; HLB; Biological control

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Esquema de criação de *D. citri* e *T. radiata* em casa de vegetação e laboratório.....36
- Figura 2 - Gaiola contendo as quatro variedades avaliadas no teste de livre escolha hospedeira por *D. citri*.....39
- Figura 3 - Plantas de citros e murtas utilizadas para o experimento de Biologia de *D. citri* em câmara climatizada. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.....39
- Figura 4 - Ninfas de 5º ínstar de *D. citri*, em A) ninfa sadia e B) ninfa parasitada com aspecto “mumificado”41
- Figura 5 - Média ($\pm$ erro padrão) do número de ovos e adultos de *D. citri* se alimentando em quatro variedades cítricas.....44
- Figura 6 - Médias ($\pm$ erro padrão) do número de ovos de *D. citri* em diferentes hospedeiros.46
- Figura 7 - Fenograma comparativo de *D. citri* criadas em seis hospedeiros, resultado da análise de agrupamento com base nos parâmetros biológicos.....50
- Figura 8 - Período de pré-oviposição de *D. citri* criado em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.....51
- Figura 9 - Média ($\pm$ erro padrão) do número de ovos e adultos de *D. citri* se alimentando em quatro variedades cítricas. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.....52

Figura 10 - Longevidade de machos e fêmeas de *D. citri* criados em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.....55

Figura 11 - Porcentagem de parasitismo ($\pm$ erro padrão) de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* criadas em quatro variedades cítricas56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características das principais variedades de laranja e tangerina comerciais do Estado de São Paulo.....	32
Tabela 2 - Médias ($\pm$ erro padrão) de duração de <i>D. citri</i> criados em diferentes hospedeiros.....	47
Tabela 3 - Médias ($\pm$ erro padrão) de sobrevivência e razão sexual de <i>D. citri</i> criados em diferentes hospedeiros.....	48
Tabela 4 - Tabela de vida de fertilidade de <i>D. citri</i> em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.....	54
Tabela 5 - Médias ($\pm$ erro padrão) de parasitismo, viabilidade, duração e razão sexual de <i>T. radiata</i> sobre <i>D.citri</i> criado em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.....	57

1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa posição de destaque no cenário agrícola mundial como maior produtor de citros, com cerca de 30% da produção mundial. Este setor, entretanto, sofreu uma queda, ao longo dos últimos seis anos, de 20% do total da produção, grande parte dela responsabilizada pelo huanglongbing (HLB) ou greening, uma severa doença que vem assolando a citricultura mundial e que foi registrada no país em 2004 (FNP, 2011).

O HLB tem sido considerado pelos pesquisadores como a maior ameaça à citricultura, devido às suas características, uma vez que não há medida curativa e a doença tem se espalhado rapidamente em diferentes regiões produtoras (GOTTWALD, 2010).

Assim, o manejo da doença está focado em medidas preventivas e, atualmente, preconizam-se três medidas: plantio de mudas sadias e certificadas, erradicação de plantas doentes e controle do inseto vetor, o psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae).

São conhecidos dois psílideos capazes de transmitir a doença, *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Triozidae) e *D. citri*, ocorrendo no Brasil apenas a segunda espécie. Seu controle tem sido realizado principalmente por meio da aplicação maciça de inseticidas; entretanto, há uma preocupação crescente em relação a estes produtos devido a problemas decorrentes do desenvolvimento de resistência, bem como à possibilidade de contaminação ambiental, humana e eliminação de inimigos naturais.

O psílideo é controlado naturalmente no agrossistema por entomopatógenos, predadores e parasitoides. Estes últimos têm alcançado bons resultados em programas de controle biológico clássico ao redor do mundo. Dentre eles, o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) vem sendo estudado, devido ao seu potencial, sendo essa espécie registrada no Brasil em 2005-2006 parasitando *D. citri* em pomares comerciais (Gomez-Torres et al. 2006).

T. radiata é um importante componente do manejo integrado de pragas em citros e até o presente momento, acredita-se que seu sucesso tem sido limitado principalmente pela aplicação sistemática de produtos químicos não seletivos (PARRA et al. 2010). Outro aspecto relevante sobre este parasitoide foi obtido por

Paiva (2009), que verificou que *T. radiata* apresenta um parasitismo diferencial em função da variedade de citros avaliada.

Dentre os recentes trabalhos de interações de plantas, herbívoros e inimigos naturais, tem sido verificado que as características vegetais que afetam os insetos, podem diferir significativamente entre variedades de uma mesma espécie de planta, e isto poderia alterar a eficiência de controle promovido por um inimigo natural.

Assim, estudos mais detalhados sobre o desenvolvimento e comportamento de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* em diferentes variedades comerciais de citros são importantes, para que possam ser traçadas estratégias mais eficientes de utilização deste inimigo natural.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência das variedades comerciais de citros e de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack] no desenvolvimento de *D. citri* e a preferência do parasitoide *T. radiata* sobre o referido psílídeo, criado em diferentes variedades cítricas e na murta, por meio de estudos biológicos e comportamentais, para definir estratégias de controle da praga em programas de MIP de citros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Huanglongbing (HLB)

A citricultura brasileira ocupa posição de destaque no cenário mundial como maior produtor de suco de laranja, sendo que o montante gerado pela exportação do produto tem grande importância na balança comercial brasileira.

A cultura apresenta características que a torna vulnerável à ocorrência de pragas, incluindo: grandes extensões do cultivo sem barreiras físicas, o que facilita a proliferação de pragas; perenidade da planta, expondo a ataques por um longo período de tempo e por último, uma estreita base genética dos pomares comerciais (SPÓSITO; BASSANEZI, 2008).

Dentre as várias doenças que ocorrem na cultura de citros, atualmente a principal ameaça do setor é a doença chamada Huanglongbing ou HLB (também conhecida como greening), que vem apresentando um enorme risco à sustentabilidade do agronegócio citrícola no Brasil e no mundo.

A doença foi relatada pela primeira vez no Sul da China em 1919, e desde então vem sendo disseminada em vários países da Ásia, África, Oceania, e pelo continente americano (BOVÉ, 2006).

No Brasil, o HLB foi registrado pela primeira vez em 2004, nos pomares da região de Araraquara-SP (COLETTA-FILHO et al. 2004); em 2005, a doença foi identificada no sul da Flórida, EUA (GOTTWALD, 2010).

A doença avança de maneira muito rápida nos pomares, reduzindo a produção, e consequentemente, elevando os custos, não apenas no Brasil, mas também na Flórida, EUA, e em países da América Central. Em estudo realizado entre maio e junho de 2010 pelo Fundecitrus, foi constatado um acentuado aumento da incidência de HLB (38%) nos pomares paulistas (BELASQUE Jr; et al., 2010).

De acordo com Gottwald (2010) a doença está associada a três bactérias: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Candidatus Liberibacter africanus* e *Candidatus Liberibacter americanus*. São bactérias gram-negativas de colonização restrita ao floema e não cultiváveis em meio de cultura (BELASQUE Jr et al., 2009b), aspecto que dificulta o estudo desse grupo de bactérias.

As espécies *Ca. Liberibacter asiaticus* e *africanus*, já eram conhecidas como os agentes causais da doença no continente asiático e africano respectivamente (GOTTWALD, 2010); no Brasil, pesquisadores ao avaliarem amostras com sintomas

de HLB não diagnosticaram a presença de *Ca. Liberibacter asiaticus*; desse modo, foi levantada a hipótese de que outra espécie de bactéria poderia estar associada à doença no Brasil.

Dessa forma, Colleta-Filho et al. (2005) comparando a região 16S do DNA ribossomal das duas bactérias já conhecidas com a detectada no Brasil, confirmaram a existência de um outro agente causal de HLB, que foi denominado *Ca. Liberibacter americanus*, que, até o momento, é restrito ao Brasil.

Em 2007 foram registradas plantas com sintomas da doença, porém, os resultados foram negativos para as três espécies de *Ca. Liberibacter* em testes utilizando-se PCR. Assim, utilizando-se a técnica de comparação de região 16S de DNA ribossomal foi identificado um novo agente causal da doença, um fitoplasma (TEIXEIRA et al., 2008).

Como já referido, no Brasil, o HLB foi registrado pela primeira vez em 2004, nos pomares da região de Araraquara-SP (COLETTA-FILHO et al., 2004); em 2005, a doença foi identificada no sul da Flórida, EUA. Apesar da presença já registrada do vetor *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), o HLB ainda não havia sido detectado na Califórnia, Arizona e Texas, EUA (GOTTWALD, 2010), porém, em janeiro de 2012 houve a confirmação de plantas infectadas com HLB no Texas (da GRAÇA et al., 2012). A doença também já foi confirmada em Yucatán no México e em várias regiões do Caribe (GOTTWALD, 2010) e na Califórnia em 2012.

Dentre os sintomas da doença, há o surgimento de um mosqueado irregular da folha entre os lados, separados pela nervura central, podendo ainda, ocorrer clorose internerval. Com o desenvolvimento da doença, ocorre desfolha das partes afetadas, morte do ponteiro, os frutos apresentam maturação irregular, são menores, apresentam sabor desagradável, são assimétricos e deformados (CAPOOR; RAO; VISWANATH, 1974; COLETTA-FILHO et al., 2005; KIMATI et al., 2005; BOVÉ, 2006; BELASQUE Jr et al., 2009a; GOTTWALD, 2010).

Observa-se um período variável entre a infecção das plantas pelo HLB e o aparecimento dos sintomas da doença, sendo esse período influenciado por diversos fatores como temperatura, concentração bacteriana de *Ca. Liberibacter*, idade e espécie ou variedades hospedeiras envolvidas (BELASQUE Jr et al., 2009b). Segundo Bové (2006), a duração deste período de latência pode variar de 6 a 12 meses; portanto, a remoção de todas as árvores sintomáticas não resultará na eliminação de todas as plantas infectadas.

De acordo com Bassanezi et al. (2010) devido a existência desse período, é possível que uma planta assintomática possa estar atuando como fonte de inóculo para plantas sadias em todo pomar.

Plantas novas, porém contaminadas, não chegam a produzir, enquanto que plantas adultas contaminadas, apresentam frutos com menor teor de sólidos solúveis e maior acidez, depreciando a qualidade do produto para industrialização. Em um período de dois a cinco anos, tais plantas acabam tornando-se totalmente improdutivas (FUNDECITRUS, 2011).

De acordo com Belasque Jr et al. (2009b) pomares de diferentes regiões do mundo podem se tornar economicamente inviáveis em até dez anos após a detecção da primeira planta sintomática se medidas de controle não forem tomadas. Um exemplo disso é relatado por Bové (2006), na China em um pomar sem nenhuma forma de controle; neste local, um período de apenas cinco anos foi necessário para que ocorresse 100% de infecção na área. Ainda, segundo o mesmo autor, quando um pomar é muito afetado, ou seja, com uma alta incidência de plantas sintomáticas, a melhor tática de controle é a eliminação de todo o pomar.

Segundo Belasque Jr et al. (2009b) não existem medidas efetivas e de baixo custo para o controle da doença, bem como, ausência de medidas curativas.

Pelo fato do agente causal do HLB tratar-se de uma bactéria, houve a tentativa de controle da doença com a aplicação de antibióticos (tetraciclina), porém, sem resultados promissores (BOVÉ, 2006). Outra tentativa sem sucesso de controle foi a realização de podas em ramos sintomáticos ou até mesmo de todo dossel da planta (LOPES et al., 2007).

Uma vez que não existem medidas curativas para o controle do HLB, seu manejo se baseia em ações preventivas, e consta de três estratégias principais: utilização de mudas sadias e certificadas, eliminação de plantas doentes dos pomares comerciais e principalmente o controle do inseto vetor (KIMATI et al., 2005; GOTTWALD, 2010).

Segundo da Graça (1991) o Huanglongbing pode ser transmitido por meio de enxertia com material contaminado, de plantas parasitas do gênero *Cuscuta* e através de dois insetos vetores, *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Triozidae) e *D. citri*. Recentemente foi detectada a bactéria *Ca. Liberibacter asiaticus* em ninfas do psílideo *Cacopsylla citrisuga* (Yang e Li, 1984) (Hemiptera: Psyllidae) se alimentando em plantas de limão [*Citrus lemon* (L.) Burm], infectadas pela doença

na China, porém, ainda não se conhece a importância desse inseto como vetor, uma vez que, estudos sobre a transmissão do patógeno ainda estão sendo realizados (CEN et al., 2012). Ainda, um quarto psílideo *Bactericera cockerelli* (Sulcen, 1909) (Hemiptera: Triozidae) é responsável pela transmissão da bactéria *Ca. Liberibacter solanacearum* (“Zebra chip”) em batata e outras solanáceas (MUNYANEZA; CROSSLIN; UPTON, 2007).

T. erythrae é responsável pela disseminação da doença no continente africano, enquanto *D. citri* nas demais regiões afetadas pela doença no mundo (HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006). Segundo Aubert (1987) tais vetores são adaptados a condições climáticas distintas, de modo que *D. citri* é adaptado a regiões de clima quente e *T. erythrae* a regiões com temperaturas mais amenas.

Segundo Bové (2006) assim como os vetores, as espécies de *Ca. Liberibacter* respondem de forma diferente às variações de temperatura. A espécie *Ca. Liberibacter asiaticus* provoca sintomas mais severos quando comparados a *Ca. Liberibacter africanus*; porém sob condições de temperaturas mais amenas, entre 22 e 24°C os sintomas causados pela espécie africana são mais evidentes; já em temperaturas em torno de 27 a 30°C as plantas infectadas por ela, tornam-se assintomáticas.

Após a detecção da doença no Brasil, *D. citri*, passou a ser considerada praga-chave na cultura do citros (PARRA et al., 2010). Segundo estes autores, na década de 40 esta espécie já havia sido registrada por Costa Lima em 1942, atacando pomares cítricos, porém o HLB só foi identificado após 62 anos do registro desse inseto no país.

2.2 Aspectos biológicos de *D. citri*

Os adultos deste psílideo medem aproximadamente de 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. De acordo com Gomez-Torres (2009), as formas jovens apresentam cinco ínstaras ninfais, são praticamente imóveis, permanecendo aderidas à planta e secretam uma substância semelhante ao “honeydew”, o que permite o desenvolvimento da fumagina.

Ninfas e adultos estão sempre associados a ramos novos (brotações) utilizados para alimentação, porém na falta de brotações, fazem uso de folhas maduras, de modo que, a disponibilidade de brotações é um fator limitante na oviposição (PARRA et al., 2010), visto que, fêmeas adultas dessa espécie só colocam ovos em brotações.

Assim como em outros insetos, a duração do ciclo biológico de *D. citri* varia de acordo com a temperatura. Em trabalho realizado por Liu e Tsai (2000), a duração da fase ninfal variou 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, respectivamente; nas temperaturas de 10 e 33° não houve desenvolvimento do inseto. Os referidos autores concluíram, que temperaturas na faixa de 25° a 28°C são as mais adequadas ao desenvolvimento do psílídeo.

Em estudo realizado por Nava et al., (2007), utilizando limão cravo como hospedeiro de *D. citri*, foi observado que a duração da fase de ovo variou de 2,6 a 7,7 dias, enquanto que a fase ninfal variou de 9,4 a 35,8 dias nas faixas de temperatura de 18 a 32°C, respectivamente.

A temperatura também afeta a oviposição, pois de acordo com Liu e Tsai (2000), a média de ovos produzida por fêmeas aumentou com o acréscimo de temperatura, atingindo um total de 748,3 ovos a 28°C. Os autores ainda observaram uma maior viabilidade dos ovos (96,2%) a 28°C. Nava et al. (2007) registraram um número inferior de ovos (348,4) quando comparado com o observado por Liu e Tsai (2000), em média 626 ovos; nos dois trabalhos foi utilizada [*Murraya paniculata* (L.) Jack] como hospedeiro, a 25°C. Tais variações foram atribuídas, pelos autores, às diferenças na qualidade das plantas utilizadas.

D. citri apresenta uma gama de hospedeiros, que incluem 21 espécies da família Rutaceae, embora nem todos os hospedeiros permitam o completo desenvolvimento do inseto (AUBERT, 1987). De acordo com Halbert e Manjunath (2004) a espécie *M. paniculata* é o hospedeiro preferencial de *D. citri*.

M. paniculata também conhecida popularmente como murta-de-cheiro ou falsa murta, é uma planta ornamental muito difundida no Brasil e no mundo, sendo esta muito utilizada como cerca viva em áreas urbanas e até mesmo próximas a pomares. Devido à grande distribuição de *M. paniculata*, houve a necessidade de se conhecer sua importância como hospedeiro da bactéria e seus efeitos na

transmissão. Até mesmo a erradicação de plantas de murta foi sugerida como uma medida extra de controle da doença (BELASQUE Jr et al., 2009).

Segundo Damsteegt et al. (2010) *M. paniculata* pode servir com um reservatório de *Ca. Liberibacter* spp., e atuar como “ponte” para as espécies cítricas, uma vez que, essa espécie pode hospedar uma grande quantidade de *D. citri*. Porém em estudo realizado por Walter, Hall e Duan (2011), os autores observaram um título muito baixo de *Ca. L. asiaticus* em murta. Tais autores relataram também que menos que 1% dos psíldeos criados em plantas infectadas apresentavam a bactéria. De acordo com os mesmos autores, o resultado do trabalho sugere que plantios de *M. paniculata* em áreas urbanas são pouco representativos como fonte de inóculo da doença.

Nava et al. (2007), utilizando três hospedeiros, murta-de-cheiro (*M. paniculata*), limão cravo (*Citrus limonia*, Osbeck) e tangerina Sunki [*Citrus sunki*, (Hayata)] observaram que a duração do ciclo ovo-adulto e a razão sexual não foram afetados pelos diferentes hospedeiros utilizados, porém a viabilidade foi inferior quando utilizou-se tangerina Sunki como hospedeiro de *D. citri*, apresentando uma viabilidade ninfal de apenas 44,6%.

Embora *D. citri* provoque danos diretos às plantas pela sucção de seiva, o inseto assume significativa importância devido à transmissão das bactérias associadas ao HLB, e os mecanismos envolvidos na transmissão da bactéria pelo psíldeo ainda são poucos conhecidos.

De acordo com Ammar; Shatters e Hall (2011) a bactéria pode ser encontrada em vários órgãos internos de *D. citri* em diferentes concentrações, sendo que, nas glândulas salivares a concentração bacteriana variou de 47 a 70%, enquanto que no canal alimentar o título da bactéria alcançou os 80%. Dessa forma, o estudo citado evidencia a circulação do patógeno no vetor, bem como a presença de uma barreira para bactéria na glândula salivar. A transmissão do patógeno dos pais à prole (transovariana) foi relatada por Pelz-Stelinski et al. (2010), porém, com uma taxa de transmissão muito baixa (2 a 6%). Em estudo recente realizado por Mann et al. (2011) constatou-se a transferência de *Ca. L. asiaticus* por machos infectados de *D. citri* para fêmeas sadias durante a cópula (transmissão horizontal), porém também com uma baixa taxa de transmissão, ou seja, de apenas 4%.

Sabe-se que um inseto adulto sadio alimentando-se em plantas infectadas pode adquirir o patógeno em 30 minutos, permanecendo em um período de latência

de 21 dias, no qual as bactérias se multiplicam e difundem-se pelos tecidos do inseto, alcançando o canal salivar (ROGERS; STANSLY, 2012).

Ninfas a partir do 2º ínstar podem adquirir *Ca. Liberibacter*; no entanto, apenas ninfas de 4º e 5º ínstar e adultos podem transmiti-la. Um período de 15 minutos de alimentação é suficiente para que o psílídeo possa transmitir a bactéria para uma planta sadia, embora com baixo grau de infectividade. Alimentando-se por mais de uma hora, a taxa de infecção é de 100% (CAPPOR; RAO; VISWANATH, 1974; MEAD; FASULO, 2011).

Em trabalho realizado por Inoue et al. (2009), foi observado um aumento da concentração de bactérias no corpo do inseto em função do período de acesso à aquisição (PAA). Verificaram ainda que a concentração não aumentava de forma significativa quando o inseto adquiria a bactéria na fase adulta; por outro lado, quando a aquisição ocorreu na fase ninfal (ninfas de 5º ínstar), observou-se um aumento na concentração de até 360 vezes; posteriormente, estes tornaram-se adultos altamente infectivos, capazes de transmitir a bactéria para 67% das plantas de citros testadas. Segundo Pelz-Stelinski et al. (2010), de acordo com testes de laboratório, ninfas de *D. citri* foram mais eficientes em adquirir a bactéria do que os adultos. A aquisição da bactéria pelos imaturos variou de 60 a 100%, sendo que por parte dos adultos a aquisição não superou os 40%.

Vários estudos estão sendo realizados com o objetivo de desenvolvimento de métodos de controle ao vetor *D. citri*. No entanto, o manejo mais realizado é baseado na utilização de inseticidas. A preocupação em relação a esse método é o desenvolvimento de resistência à molécula inseticida. Trabalhos com controle biológico (predadores, parasitoides e patógenos) também estão sendo conduzidos para o controle do psílídeo.

2.3 Inimigos naturais de *D. citri*

Os inimigos naturais (parasitoides, predadores e patógenos) são considerados os principais fatores de mortalidade natural no agroecossistema, sendo esses, a base do manejo integrado de pragas (MIP), podendo ainda, atuar isoladamente, mantendo as pragas a níveis populacionais aceitáveis, ou mesmo ser integrado a demais métodos de controle de insetos (PARRA et al. 2008).

Atualmente, o controle de *D. citri* é baseado, principalmente, na utilização de inseticidas para o manejo do HLB. Segundo Yamamoto e Parra (2005) vários

problemas podem ser causados devido à intensa utilização desses produtos, como: a eliminação de inimigos naturais, ressurgência de pragas, surtos de pragas secundárias e resistência de pragas às moléculas inseticidas.

De acordo com Michaud (2004), as principais espécies predadoras de *D. citri* na Flórida são os coleópteros *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae), *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera: Coccinellidae), *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae), e *Exochomus childreni* (Coleoptera: Coccinellidae) Mulsant, 1850, dois neurópteros, *Ceraeochrysa* sp. Adams, 1982 (Neuroptera: Crysopidae) e *Chrysoperla rufilabris* Burmeister, 1839 (Neuroptera: Crysopidae) e um aracnídeo *Hibana velox* (Becker, 1879) (Araneae: Anyphaenidae). Como resultado do estudo, os coccinélídeos foram indicados como os mais importantes agentes de controle na Flórida, EUA. Além destes, outros predadores foram relatados alimentando-se de *D. citri* como representantes da família Syrphidae e Anthocoridae (MICHAUD, 2002; MICHAUD, 2003).

Assim como nos EUA, em Porto Rico, os coccinélídeos foram considerados importantes agentes de controle de *D. citri*, sendo os mais abundantes *Coelophora inaequalis* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Coccinellidae) e *Cycloneda sanguinea limbifer* L. (Coleoptera: Coccinellidae) (PLUKE et al., 2005).

Em levantamento de inimigos naturais associados a *D. citri* no Brasil, foram encontrados três coccinélídeos em ramos contendo o psilídeo: *C. sanguinea*, *H. axyridis* e *Scymnus* sp. (Pullus) (Coleoptera: Coccinellidae) além de larvas de sirfídeos e crisopídeos. No entanto, apenas um neuróptero, *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Crysopidae) foi observado predando uma ninfa e um adulto de *D. citri* (PAIVA, 2009). De acordo com Parra et al. (2010) os predadores não têm representado importância significativa no controle de *D. citri* no Brasil; segundo o autor isso ocorre, provavelmente, devido a aplicação intensa de agroquímicos.

Segundo Qureshi e Stansly (2009), os inimigos naturais são fundamentais na regulação da população de *D. citri* no campo, e a eliminação desses agentes de controle devido ao uso intensivo de inseticidas pode aumentar a propagação da doença.

Dentre os parasitoides, são citadas duas espécies associadas ao psilídeo do citros, *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), um

ectoparasitóide idiobionte e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shaffe, Alam e Agarwal, 1975) um endoparasitoide (Aubert, 1987; Halbert; Manjunath, 2004).

Acredita-se que *T. radiata* seja mais eficiente no controle de *D. citri* do que *D. aligarhensis*. Em levantamento conduzido nas ilhas Reunión foi verificado que o primeiro alcançou um parasitismo em torno de 70% em ninfas do psilídeo enquanto que o parasitismo por *D. aligarhensis* não alcançou 20% (AUBERT, 1987).

Após a detecção do HLB no Brasil pensou-se na importação do parasitoide *T. radiata* que estava sendo criado na Universidade da Flórida; no entanto, nos anos de 2005-2006 o parasitoide foi encontrado nos municípios de Piracicaba e Jaboticabal, SP (GOMEZ-TORRES et al., 2006).

T. radiata é originário da Ásia e específico de *D. citri*. As fêmeas dessa espécie podem se alimentar de ovos e ninfas jovens e parasitam preferencialmente ninfas de 4º e 5º ínstaes, segundo registrado por Gomez-Torres (2009), com valores de parasitismo de 61,25 e 88,75% respectivamente.

Fêmeas de *T. radiata* depositam os ovos na face ventral do corpo de *D. citri*, e, uma vez eclodida, a larva passa a se alimentar da hemolinfa da ninfa hospedeira, e ao final do desenvolvimento adere os restos da ninfa à planta para criar uma proteção sob a qual ela possa pupar, dando um aspecto opaco à ninfa parasitada (múmia). Ao final, o adulto perfura a região do tórax da ninfa do psilídeo, criando uma abertura circular para a emergência.

Foram realizados estudos da biologia de *T. radiata* comparando diferentes temperaturas no desenvolvimento do parasitoide. Verificou-se que as maiores taxas de parasitismo foram obtidas nas temperaturas de 25° e 30°C (84,17 e 72,50% respectivamente). Nessas temperaturas também se registraram os maiores valores de emergência. A duração do período de desenvolvimento (ovo-adulto) variou entre 17,33 a 7,60 dias numa faixa de temperatura de 15° a 35°C para fêmeas e 15,33 a 6,63 dias na mesma, condição de temperatura, para machos (GOMEZ-TORRES, 2009).

A capacidade de parasitismo variou de 20 a 167 ninfas parasitadas por fêmeas, nas temperaturas de 15° e 25°C, respectivamente. Em trabalho realizado por Chu e Chien (1991), a fecundidade variou de 98 a 156 ovos por fêmea, quando alimentada com mel e pólen, porém de acordo com Pluke; Qureshi e Stansly (2008) uma única fêmea de *T. radiata* pode depositar até 300 ovos ao longo da vida.

Em trabalho realizado por McFarland e Hoy (2001) avaliou-se a influência de cinco umidades relativas (UR) (7, 33, 53, 75 e 97%), na sobrevivência de *T. radiata*; como conclusão, os autores observaram uma maior sobrevivência do parasitoide nas três maiores umidades.

T. radiata é considerado promissor no controle de *D. citri*, uma vez que, bons resultados foram alcançados pela utilização em programas de controle biológico clássico. Nas ilhas Reunión, o HLB foi detectado pela primeira vez em 1967; a seguir, *T. radiata* foi importado da Índia e multiplicado em laboratório, sendo liberados, em 1978-1979, em torno de 4.600 parasitoides, observando-se seu estabelecimento na área. Na ilha Guadalupe, em 1998, foi registrada a presença do psílídeo vetor do greening e baseado no sucesso das ilhas Reunión foi realizada a introdução de *T. radiata* nesta ilha; foram liberados apenas 1000 parasitoides, estes se mantiveram e se dispersaram por várias áreas de citros da região (ETIENNE et al., 2001). Segundo Halbert e Manjunath (2004) o sucesso obtido nas ilhas Reunión e Guadalupe devem-se às características geográficas das ilhas e à ausência de hiperparasitoides.

Na Flórida, houve importação e liberação de *T. radiata* e *D. aligarhensis* como forma de controle biológico clássico, no entanto apenas o primeiro se estabeleceu na região, promovendo um controle satisfatório do psílídeo (MICHAUD, 2002).

Em liberações do parasitoide em áreas comerciais de São Paulo, Gomez-Torres (2009) verificou que o número de ninfas de quarto e quinto ínstar de *D. citri* diminuiu após a liberação do parasitoide. Oito dias após liberação de *T. radiata*, a porcentagem de parasitismo se manteve em média de 51 e 72%, apresentando um acentuado decréscimo para 4 e 10% de parasitismo 15 dias após a liberação.

Segundo Parra et al. (2010), *T. radiata* poderá ser utilizado como agente de controle biológico de *D. citri*, sendo um componente adicional no manejo integrado de pragas (MIP) na citricultura; no entanto, o maior problema associado ao uso do parasitoide é a aplicação sistemática de produtos químicos não seletivos no controle do psílídeo. Os mesmos autores ainda propõem algumas alternativas para o problema, como: liberação de *T. radiata* em áreas orgânicas de citros ou mesmo em áreas com grande quantidade do hospedeiro alternativo do psílídeo (*M. paniculata*) ou em pomares abandonados, a fim de aumentar a população do parasitoide para posterior dispersão do inimigo natural para as áreas comerciais de citros.

Além da temperatura, a cultivar da planta hospedeira de *D. citri* pode influenciar o parasitismo de *T. radiata*. Segundo Paiva (2009) houve diferença na taxa de parasitismo em relação a quatro variedades de citros. Maior percentual de parasitismo foi observado na variedade Hamlin (35,6%), seguida de Pêra (19,2%), Valência (8,6%) e Natal (7,3%). Como estas observações foram realizadas em condições de campo, são necessários mais estudos para se entender a relação tritrófica: variedades comerciais de citros x *D. citri* x *T. radiata*.

2.4 Variedades comerciais de citros

A diversidade das variedades na cultura citrícola é muito importante, pois, estratifica a colheita dos frutos ao longo do ano, e ainda, permite ao citricultor vender em épocas de melhor preço, evitando dessa maneira a concentração de ofertas em apenas alguns meses (NEVES, 2005).

As variedades comerciais de copa são distribuídas de maneira geral, em laranjas, limões, limas ácidas, tangerinas e pomelos, sendo o grupo de laranjas doces o que apresenta maior importância (PIO et al., 2005). Segundo os mesmos autores, as laranjas doces [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], prevalecem na maioria dos países produtores de citros, totalizando dois terços da produção citrícola.

As variedades de laranja mais plantadas no estado de São Paulo são Pêra, Natal, Valência e Hamlin, sendo essa última, aquela com o menor número de plantas destinadas a comercialização.

A laranja 'Pêra' é a principal variedade cítrica do Brasil, devido principalmente a excelente qualidade dos frutos com grande aceitação, tanto para o mercado interno como externo, caracterizada como uma variedade de meia-estação (PIO et al., 2005). Segundo Donadio; Figueiredo e Pio (1995) essa variedade é considerada tipicamente brasileira, porém sua origem é desconhecida.

A variedade Natal, juntamente com Valência produzem frutos de maturação tardia e são ainda consideradas as variedades comerciais mais produtivas, sendo 'Natal' uma variedade cultivada apenas no Brasil (PIO et al., 2005) Já 'Valência' representa a principal variedade cultivada na maioria dos países citrícolas destacando-se pela ótima produtividade e tamanho dos frutos (FIGUEIREDO, 1991; PIO et al., 2005).

Com maturação precoce de frutos, a produção da variedade Hamlin é basicamente destinada ao consumo externo e à indústria de suco concentrado (FIGUEIREDO, 1991).

No grupo das tangerinas, a variedade Ponkan [*Citrus reticulata* (L.) Blanco], originária da Ásia é a mais cultivada no mundo, (SAUNT, 1990), com frutos grandes de sabor agradável e muito apreciada para o consumo in natura (PIO et al. 2005).

As diferentes variedades de citros parecem apresentar um comportamento variável em relação à incidência da doença, uma vez que, em levantamento realizado pelo Fundo de Defesa da Citricultura em 2011, foi verificado que a maior incidência ocorre na variedade Valência (62%) e a menor em Natal com 43%.

Algumas características das variedades de laranja e tangerina de maior valor comercial no Brasil são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características das principais variedades de laranja e tangerina comerciais do Estado de São Paulo

Variedade	Origem	Grupo	Principais épocas de colheita	(%) de árvores plantadas*	Destino**
Hamlin	Flórida (EUA)	Laranja doce	Abril a Julho (precoce)	12,7	E - S
Natal	Brasil	Laranja doce	Agosto a Dezembro (tardia)	10,9	MI - E - S
Pêra	Desconhecido	Laranja doce	Julho a Novembro (meia-estação)	29,0	MI - E - S
Valência	Portugal	Laranja doce	Agosto a Dezembro (tardia)	28,5	MI - E - S
Ponkan	Índia	Tangerina	Maio a Julho (meia-estação)	Não informado	MI

*dados da Coordenadoria de Defesa Agropecuária (CDA) referente ao 1º semestre de 2012

** MI = mercado interno, E = exportação e S= suco

Fonte: Adaptado de Pio et al. (2005)

2.5 Relações tritróficas e o controle biológico

Insetos e plantas apresentam uma estreita relação entre si, de modo que tal interação torna-se relevante não só do ponto de vista do ecossistema natural, como também do agroecossistema (SCHOONHOVEN; van LOON; DICKE, 2005). Porém, para um melhor entendimento da interação planta-herbívoro torna-se fundamental

conhecer o papel dos inimigos naturais, ou seja, dentro de um contexto tritrófico (PRICE, 1980; PRICE, 1991).

As interações tritróficas, as quais envolvem plantas, herbívoros e inimigos naturais são determinados basicamente por dois fatores, sendo: 1) efeito direto da planta sobre o comportamento ou biologia do inimigo natural, e 2) influência da planta sobre o herbívoro, afetando também sua biologia e comportamento, o que consequentemente afeta, indiretamente, os inimigos naturais (BOTTRELL; BARBOSA, 1998; BARROS; VENDRAMIM 1999; VENDRAMIM, 2002).

Como efeito direto da planta sobre os inimigos naturais, as substâncias químicas voláteis (semioquímicos) produzidas pelas plantas em resposta ao ataque de herbívoros são importantes nas relações que envolvem plantas, praga e os inimigos naturais (VENDRAMIM, 2002). Nesse contexto, esses compostos voláteis refletem diretamente no comportamento de busca hospedeira ou da presa pelos inimigos naturais (VET; DICKE, 1992; MORAES; LEWIS; TUMLINSON, 2000).

O reconhecimento de odores (voláteis) liberados pelas plantas em resposta ao dano realizado por um herbívoro é utilizado pelos inimigos naturais como pistas indicativas sobre a localização hospedeira ou da presa (TUMLINSON; TURLINGS; LEWIS, 1993; MORAES; LEWIS; TUMLINSON, 2000). Contudo, o comportamento de busca hospedeira pode ser dificultado devido à grande quantidade de compostos voláteis disponíveis no ambiente (BENTO; NARDI, 2009).

Variações na composição dos compostos secundários de defesa e de voláteis liberados após herbivoria podem ser encontradas nas diferentes variedades de uma cultivar (BALLHORN, 2008). Esse fato tornaria ainda mais complexa a dinâmica de forrageio e a capacidade de interpretar tais sinais. Porém, observa-se uma grande plasticidade comportamental dos inimigos naturais, principalmente no que diz respeito à aprendizagem com base na experiência prévia (MORAES; LEWIS; TUMLINSON, 2000).

Outro efeito direto da planta sobre os inimigos naturais são as características morfológicas da planta.

As características físicas da planta como a largura e comprimento das folhas, número de ramificações (brotações), dureza, quantidade de ceras na superfície foliar e tricomas exercem influência na alimentação e oviposição, tanto em insetos fitófagos como em seus inimigos naturais (CAVALCANTI et al., 2000; SCHOONHOVEN; van LOON; DICKE, 2005).

De acordo com Vendramim (2002) uma característica importante que pode afetar os inimigos naturais são os tricomas, pois podem dificultar a movimentação de predadores e parasitoides durante a busca por presas ou hospedeiros.

Como efeito da planta sobre os herbívoros, influenciando indiretamente os inimigos naturais, substâncias do metabolismo secundário das plantas são importantes mecanismos de defesa contra a herbivoria, representados por repelentes, deterrentes e substâncias tóxicas (BENTO; NARDI, 2009) que podem ser ingeridos e armazenados em certas partes do corpo (sequestro) e utilizados como defesa contra inimigos naturais (van der MEIJDEN, 1996; GOLS; HARVEY, 2009). Contudo, do mesmo modo, tais compostos podem afetar positivamente os inimigos naturais (MORAES; LEWIS; TUMLINSON, 2000).

Segundo Bukovinsky et al. (2009) variações na qualidade nutricional da planta afetam a resposta imune de herbívoros ao parasitismo. A eficiência de inimigos naturais também é observada quando diferentes cultivares proporcionam um alongamento no período de desenvolvimento do herbívoro, o que aumentaria a sua exposição aos parasitoides ou predadores (BARROS; VENDRAMIM 1999).

Dessa forma, o conhecimento sobre os fatores que influenciam as relações entre plantas, herbívoros e inimigos naturais são importantes, pois podem auxiliar nas estratégias de manejo integrado de pragas, bem como no sucesso da utilização de insetos entomófagos em programas de controle biológico de pragas (MORAES; LEWIS; TUMLINSON, 2000; TUMLINSON; TURLINGS; LEWIS, 1993; PRICE, 1980).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação de manutenção de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae).

Os insetos utilizados no estudo foram provenientes da criação de manutenção do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP.

A técnica de criação foi adaptada de Gómez-Torres (2009), sendo utilizadas plantas de [*Murraya paniculata* (L.) Jack.] (murta), por ser essa espécie o hospedeiro preferencial de *D. citri* para alimentação e oviposição (AUBERT, 1987; NAVA et al., 2007).

Dessa forma, para criação do psíldeo e conseqüentemente do seu parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) utilizaram-se plantas de murta. Em casa de vegetação, 300 adultos de *D. citri* foram mantidos em gaiolas de 45 x 45 x 60 cm, com seis mudas de murta de 30 cm, contendo brotações. Para a obtenção de ovos, os psíldeos permaneciam nessa condição por sete dias. Após esse período, os insetos eram retirados com o auxílio de um sugador manual e as plantas com ovos permaneceram na estufa para o desenvolvimento dos insetos (Figura 1).

3.2 Criação de manutenção de *T. radiata*

Para a criação do parasitoide *T. radiata* foram oferecidas plantas contendo ninfas de 4° e 5° instares de *D. citri* provenientes da criação de manutenção do psíldeo (item 3.1).

Um total de 12 plantas foram colocadas em gaiolas de 50 x 50 x 90 cm, contendo, cada uma, em média, 1000 ninfas de *D. citri*, mantidas em sala climatizada à temperatura de $25 \pm 2^\circ$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. No interior da gaiola, com o auxílio de um estilete foi disponibilizado no interior da gaiola uma mistura de mel e pólen para a alimentação dos parasitoides, que eram colocadas em no mínimo 200 insetos por gaiola (Figura 1).

Figura 1 – Esquema de criação de *D. citri* e *T. radiata* em casa-de-vegetação e laboratório

3.3 Manutenção de mudas cítricas e de murta

As mudas de laranja doce [*Citrus sinensis*, (L.) Osbeck], e da tangerina [*Citrus reticulata* (L.) Blanco] utilizadas nos testes foram adquiridas em viveiros comerciais credenciados e certificados. Foram adquiridas mudas de citros padrão (sacos plásticos de 4 litros).

As variedades de copa utilizadas nos testes foram para laranja doce, Hamlin, Natal, Pêra e Valencia e para tangerina, a variedade Ponkan; todas as variedades de copa mencionadas foram cultivadas sobre o porta-enxerto limão-cravo (*Citrus limonia* Osbeck).

As mudas foram mantidas em casa de vegetação, onde eram diariamente irrigadas. As plantas foram fertilizadas quinzenalmente com solução foliar do adubo de “Peter’s” (NPK 20 – 20 – 20).

As mudas de murta foram adquiridas em viveiros e mantidas sob as mesmas condições das mudas cítricas.

Com o intuito de manter uma maior uniformidade foram utilizadas apenas mudas cítricas com até dois anos e meio de idade para todos os tratamentos.

3.4 Influência da variedade de citros sobre a alimentação e fertilidade de *D. citri*

3.4.1 Teste de livre escolha

Para avaliar a preferência hospedeira para alimentação e oviposição de *D. citri* em diferentes variedades de citros, realizou-se um teste de livre escolha em gaiolas de 40 x 120 x 40 cm, cobertas com tecido “voile”, mantidas em casa de vegetação (Figura 2).

Em cada gaiola foi colocada uma muda cítrica de cada variedade testada, (Hamlin, Natal, Pêra e Valência) distribuída de forma casualizada nas extremidades da gaiola (equidistantes entre si). Para o teste foram utilizadas plantas contendo três brotações. No centro das gaiolas foram liberados 200 adultos de *D. citri* com idade de 15 dias.

Após 72 horas, foram contados os números de insetos (considerando-se os que estavam se alimentando) e o número de ovos presentes em cada variedade. Para a contagem de ovos, as brotações foram destacadas e avaliado o número de ovos com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um total de 12 repetições.

3.4.2 Teste de oviposição sem chance de escolha

Para a realização do teste de oviposição sem chance de escolha (confinamento) de *D. citri* foram utilizados seis hospedeiros, sendo eles, murta-de-cheiro (*M. paniculata*), quatro variedades de laranja doce, *C. sinensis* (Hamlin, Natal, Pêra e Valência) e a variedade Ponkan do grupo das tangerinas, *C. reticulata*. Foram utilizadas plantas contendo três brotações (ramos).

Em casa de vegetação, grupos de 25 adultos do psílídeo com idade de 15 dias foram dispostos em gaiolas de tecido tunil e confinados por um período de 72 horas nos diferentes hospedeiros mencionados. Após esse período, os adultos foram retirados e posteriormente contados os números de ovos presentes em cada hospedeiro. Para contagem, as brotações foram destacadas e avaliado o número de ovos, com o auxílio de um microscópio estereoscópico.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em um total de 20 repetições para os hospedeiros Pêra, Valência e Ponkan e 16 repetições nos demais hospedeiros testados.

3.5 Biologia de *D. citri* em diferentes hospedeiros.

Os hospedeiros utilizados para o estudo da biologia de *D. citri* foram: murta-de-cheiro (*M. paniculata*) e cinco variedades do gênero *Citrus* sendo elas, Hamlin, Natal, Pêra, Valência e Ponkan.

Utilizando-se gaiolas de tecido tunil, foi confinado um casal de *D. citri* com 15 dias de vida (correspondente ao período de pré-oviposição) em cada planta, por 24 horas; após esse período, os casais foram retirados e os ovos contados com o auxílio de um microscópio estereoscópico. O trabalho foi desenvolvido em câmara climatizada mantida na temperatura de $25 \pm 2^\circ$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h (Figura 3).

Diariamente foi realizada a contagem de ninfas eclodidas, sua mortalidade, realizando-se observações até a emergência de adultos. Os parâmetros avaliados foram: tempo de desenvolvimento, viabilidade e razão sexual. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com número diferente de repetições.

Figura 2 – Gaiola contendo as quatro variedades avaliadas no teste de livre escolha hospedeira por *D. citri*

Figura 3 – Plantas de citros e murta utilizadas para o experimento de Biologia de *D. citri* em câmara climatizada. Temp. $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h

Para elaboração da tabela de vida de fertilidade foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: duração do período ovo-adulto, viabilidade das fases imaturas, período de pré-oviposição, razão sexual, longevidade de machos e fêmeas e ritmo diário de postura (SILVEIRA NETO et al., 1976). Com esses dados foram calculados os parâmetros: R_0 = taxa líquida de reprodução; T = duração de cada geração; r_m = capacidade inata de aumentar em número e λ = razão finita de aumento.

Casais recém-emergidos de *D. citri* provenientes de diferentes hospedeiros foram dispostos em gaiolas de tunil e acondicionados em mudas do mesmo hospedeiro no qual haviam sido criados. O trabalho foi desenvolvido em câmara climatizada mantida na temperatura $25 \pm 2^\circ$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em um total de 12 repetições para cada tratamento (hospedeiro).

3.6 Influência de variedades de citros sobre o parasitismo de *T. radiata*

3.6.1 Teste de preferência de parasitismo com chance de escolha

Foram utilizadas gaiolas (como descrito no item 3.4.1) contendo uma muda de cada variedade de citros (Hamlin, Natal, Pêra e Valência), equidistantes entre si, todas contendo 50 ninfas de 5º instar de *D. citri*, provenientes das respectivas variedades. No centro de cada gaiola foram liberados três casais de *T. radiata* com dois dias de vida, permitindo-se o parasitismo por 48 horas, em condições naturais.

Após esse período, os parasitoides foram retirados e as plantas acondicionadas em câmara climatizada mantida na temperatura de $25 \pm 2^\circ$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. As plantas permaneceram nessa condição por cinco dias, tempo necessário para diferenciação das ninfas parasitadas daquelas não parasitadas. A porcentagem de parasitismo nas diferentes variedades foi obtida a partir da contagem das ninfas parasitadas, as quais são opacas e com uma coloração escura (“mumificada”) (Figura 4).

3.7 Biologia de *T. radiata* sobre *D. citri* criadas em diferentes hospedeiros

Para o estudo, mudas das cinco variedades do gênero *Citrus* (como descrito no item 3.5) e murta, contendo 50 ninfas de 5º instar de *D. citri* provenientes dos respectivos hospedeiros foram oferecidos a um casal de *T. radiata* por um período

de 24 horas, em câmara climatizada mantida na temperatura $25 \pm 2^\circ$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Após esse período, os parasitoides foram retirados e as mudas mantidas nas mesmas condições.

Os seguintes parâmetros foram avaliados: parasitismo, duração de desenvolvimento (ovo-adulto), emergência (viabilidade) e razão sexual.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com número diferente de repetições.

Figura 4 – Ninfas de 5º ínstar de *D. citri*, em, A) ninfa sadia, e B) ninfa parasitada com aspecto “mumificado”

3.8 Análise estatística

Os dados referentes ao teste de livre escolha de escolha hospedeira, biologia de *D. citri* em diferentes hospedeiros e biologia de *T. radiata* sobre *D. citri* criado em diferentes hospedeiros (3.4.1, 3.5 e 3.7) foram analisados quanto a sua normalidade, homocedasticidade e presença de “outliers” por meio da transformação ótima de Box-Cox (com o auxílio do programa estatístico SAS®); posteriormente, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Foram feitas análises de agrupamento (“cluster analysis”) com o programa estatístico SAS® versão 9.1, utilizando-se todos os parâmetros avaliados para biologia de *D. citri* em diferentes hospedeiros (item 3.5).

Os parâmetros referentes à tabela de vida de fertilidade foram analisados pelo Método de Jackknife utilizando-se o programa estatístico SAS[®] versão 9.1 (MAIA; LUIZ, 2006).

Os dados do número de ovos e preferência de parasitismo dos itens 3.4.2 e 3.6.1 foram analisados por meio de um modelo de regressão logística: modelo linear generalizado (GLM) especificamente projetado para modelagem de dados de Quasi-poisson. Os testes de pares foram realizados, com contrastes apropriados, com uma significância global de 5% mantida por meio da correção de Bonferroni. A comprovação da distribuição dos dados foi realizada por meio de uma função de estimativa dos erros e variância (função evel). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se software estatístico R.

Para análise dos dados de razão sexual foi utilizado o teste não paramétrico de Qui-quadrado com o auxílio do programa estatístico SAS[®] versão 9.1.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Influência da variedade de citros sobre a alimentação e fertilidade de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae)

4.1.1 Teste de livre escolha

Verificou-se a preferência de alimentação e oviposição de *D. citri* pela variedade Natal, com médias de 44,6 insetos se alimentando na planta e 49,5 ovos por planta, valores que diferiram estatisticamente das demais variedades estudadas.

Quando avaliada a alimentação, a variedade Pêra diferiu estatisticamente de Valência, porém, não diferindo de Hamlin com médias de 20,3; 7,3 e 13,9 insetos por planta respectivamente. Por outro lado, quanto ao número de ovos, Pêra (21,9) foi similar a Valência (13,8), diferindo de Hamlin que apresentou uma média de 6,3 ovos por planta. Não houve diferença estatística entre as variedades Hamlin e Valência para ambos os parâmetros analisados (Figura 5).

Diferenças na oviposição em diferentes hospedeiros foram relatados por Teck et al. (2011) em testes de livre escolha hospedeira. Os resultados mostraram que fêmeas de *D. citri* ovipositaram mais em murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack] (77,4 ovos por planta) quando comparada a [*Citrus reticulata* (L.) Blanco] e curry [*Murraya koenigii* (L.)] com médias de 48,8 e 26,4 ovos por planta respectivamente.

De acordo com resultados obtidos na presente pesquisa, a variedade Natal foi a mais adequada para alimentação e oviposição quando comparada com as demais variedades, indicando uma possível presença de características favoráveis ao desenvolvimento do psílídeo, incluindo-se estímulos táteis, visuais e olfativos (BENTO; NARDI, 2009).

Estímulos olfativos estão mais relacionados com a busca e seleção de hospedeiros adequados (BALLHORN et al., 2008). Em trabalho realizado por Wenninger; Stelinski e Hall (2009), sobre a resposta de *D. citri* a compostos voláteis de quatro hospedeiros, laranja doce (*Citrus sinensis* L.), laranja azeda (*Citrus aurantium* L.), toranja da variedade Duncan (*Citrus paradisi* Macfayden) e murta (*M. paniculata*), foi observado que adultos *D. citri* respondem a odores liberados por estas plantas, havendo uma maior atratividade dos insetos a esses voláteis quando pistas visuais (a planta) estavam disponíveis.

Figura 5 – Média ($\pm$ erro padrão) do número de ovos e adultos de *D. citri* se alimentando em quatro variedades cítricas. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

De acordo com Patt e Setámou (2007) alguns parâmetros comportamentais de busca hospedeira que envolvem a resposta a sinais químicos, só são observados quando aliados a estímulos visuais, como observado para *Homalodisca coagulata* Say (Hemiptera: Cicadellidae) uma espécie vetora da bactéria *Xylella fastidiosa*. Os mesmos autores, Patt e Setámou (2010), observaram que *D. citri* apresentou atratividade diferenciada a voláteis emitidos por brotações de três espécies hospedeiras, e que a composição dos voláteis de cada uma das espécies apresentou perfis distintos, embora com predominância de terpenoides.

Tais informações a respeito da variabilidade na composição de voláteis encontrados nos diferentes hospedeiros ou cultivares podem explicar a maior atratividade observada por *D. citri* à variedade Natal para os parâmetros avaliados.

Segundo Teck et al. (2011) a preferência por sítios (locais) ótimos de oviposição é um fator importante para insetos sugadores como psíldeos, devido à baixa mobilidade das ninfas. Porém, uma maior preferência por uma variedade, não

necessariamente está associado a um melhor desenvolvimento do inseto, podendo apresentar uma correlação negativa entre preferência de oviposição e o “fitness” da prole (THOMPSON, 1988; MAYHEW, 2001; WISE et al., 2008). De acordo com Westbrook et al. (2011) alguns hospedeiros são atraentes para oviposição, mas podem conter compostos que influenciam negativamente o desenvolvimento ninfal, o que consequentemente afeta a população de *D. citri*. Há necessidade de novos estudos com *D. citri* nessa direção.

4.1.2 Teste de oviposição sem chance de escolha

Verificou-se maior oviposição nas variedades Valência com uma média de 227 ovos por planta, seguida de Pêra (193,5 ovos) e Natal (187,4 ovos), não havendo diferença estatisticamente significativa entre elas. Para Ponkan e murta foram observados 154,8 e 146,3 ovos por planta respectivamente, de modo que, não se observaram diferenças entre as variedades Natal e Pêra, porém, diferindo de Valência. O menor número de ovos por planta foi obtido em Hamlin (101,4), o qual foi estatisticamente diferente dos valores obtidos nas demais variedades avaliadas.

O resultado encontrado para variedade Hamlin para esse teste corrobora o observado no teste de livre escolha (item 3.4.1). Em ambos os testes, tal variedade se mostrou menos atrativa para postura de *D. citri*, com o menor número de ovos por planta (Figura 6).

A qualidade da planta hospedeira é um fator determinante na fecundidade de insetos fitófagos, podendo afetar parâmetros como o tamanho e qualidade do ovo (AWMACK; LEATHER, 2002). Segundo Teck et al. (2011), o desenvolvimento de psílídeos está relacionado ao estado nutricional da planta hospedeira, principalmente na qualidade da seiva e na concentração de aminoácidos.

A disponibilidade dos nutrientes é um fator importante no desenvolvimento e fertilidade do inseto, como observado no pulgão *Drepanosiphum platanoideis* (Schrank, 1801) (Hemiptera: Aphididae) se alimentando em *Acer pseudoplatanus* (L.). Em períodos de crescimento vegetativo das plantas em que havia um alto teor de aminoácidos disponíveis no floema, os pulgões eram maiores e mais fecundos; por outro lado, em folhas maduras, os aminoácidos estavam presentes em menor quantidade, diminuindo a fertilidade do pulgão (AWMACK; LEATHER, 2002).

Além disso, metabólitos secundários presentes nos tecidos vegetais podem estar presentes nas diferentes variedades de uma espécie vegetal, em quantidades diferentes entre elas, influenciando a oviposição (HORNER; ABRAHAMSON, 1992).

Figura 6 – Médias ($\pm$ erro padrão) do número de ovos de *D. citri* em diferentes hospedeiros. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Bonferroni ao nível de 5% de probabilidade

Segundo Anderson et al. (1989) além dos fatores químicos, características físicas da planta estão envolvidas na aceitação do inseto por locais de oviposição.

A preferência de oviposição por *Eurosta solidaginis* (Fitch, 1855) (Diptera: Tephritidae) é afetada pelo diâmetro dos brotos, apresentando ainda, preferência por plantas com altas taxas de fluxo vegetativo (HORNER; ABRAHAMSON, 1992).

Em trabalho realizado por Moran; Buchan (1975), o efeito da dureza da folha sobre a penetração do ovipositor de *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Triozidae) foi avaliado em quatro hospedeiros com folhas de diferentes durezas. Como resultado, tais autores observaram uma maior oviposição em folhas tenras e ausência de ovos em folhas com mais de 90 mm de espessura.

Para *T. erytraeae*, a espessura foliar é uma característica limitante para oviposição, devido à inserção do pedicelo do ovo no tecido vegetal, que é responsável pela absorção de fluidos da folha para o ovo (BLOWERS; MORAN, 1967; WHITE, 1968). Isto foi também observado para outro psílídeo, *Ctenarytaina thysanura* (Ferris; Klyver, 1932) (Hemiptera: Psyllidae), em diferentes variedades de plantas que apresentavam variáveis níveis de dureza foliar (MENSAH; MADDEN, 1991).

Pode se levantar a hipótese de que o mesmo ocorra para *D. citri*, uma vez que, foi observado que esta espécie também coloca ovos com pedicelo inserido no tecido vegetal. (DOSSI¹, comunicação pessoal) e, como *T. erytraeae*, tem hábito semelhante na transmissão do HLB.

4. 2 Biologia de *D. citri* em diferentes hospedeiros

Para a duração, observou-se apenas diferença significativa na duração da fase de ovo, sendo a maior em Natal, com média de 4,91 dias, e a menor duração observada em Ponkan (4,24 dias); por outro lado, a maior duração da fase ninfal foi observada na variedade Ponkan (13,65 dias) e a menor duração ninfal observada em murta (12,93 dias). O ciclo total de desenvolvimento (ovo-adulto) variou de 18,43 e 17,26 dias para Natal e murta, respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias ($\pm$ erro padrão) de duração de *D. citri* criados em diferentes hospedeiros *

Hospedeiro	n	Duração (dias)		
		Ovo	Ninfa	Total
Valência	17	4,79 $\pm$ 0,14 ab	13,19 $\pm$ 0,22 a	17,98 $\pm$ 0,20 a
Natal	17	4,91 $\pm$ 0,14 a	13,46 $\pm$ 0,18 a	18,43 $\pm$ 0,13 a
Pêra	17	4,43 $\pm$ 0,15 ab	13,43 $\pm$ 0,20 a	17,88 $\pm$ 0,19 a
Ponkan	19	4,24 $\pm$ 0,20 b	13,65 $\pm$ 0,18 a	17,93 $\pm$ 0,15 a
Hamlin	15	4,33 $\pm$ 0,16 ab	13,35 $\pm$ 0,25 a	17,75 $\pm$ 0,26 a
Murta	18	4,57 $\pm$ 0,14 ab	12,93 $\pm$ 0,22 a	17,26 $\pm$ 0,26 a

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

As maiores viabilidades para o estágio de ovo foram observadas em murta (85,7%) e na variedade Valência (83,3%), seguindo-se Ponkan (75,2%), Natal (74,2%), Pêra (71,7%) e Hamlin (56,8%). Em relação à viabilidade da fase ninfal, o

¹DOSSI, F.A.C. Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

sendo que, nas demais variedades e em murta a viabilidade foi semelhante. Em relação à viabilidade total os valores variaram de 65,9% a 32,6%, sendo que o maior valor foi obtido na variedade Valência e menor em 'Hamlin' (Tabela 3).

Não houve influência dos hospedeiros na razão sexual dos psílídeos, havendo predominância de fêmeas em todos os tratamentos (Tabela 3), evidenciando o grande potencial de reprodução.

Tabela 3 - Médias ($\pm$ erro padrão) de sobrevivência e razão sexual de *D. citri* criados em diferentes hospedeiros *

Hospedeiro	n	Viabilidade (%)			Razão sexual
		Ovo	Ninfa	Total	
Valência	17	83,3 $\pm$ 6,10 a	79,12 $\pm$ 4,15 a	65,90 $\pm$ 6,94 a	0,62 $\pm$ 0,07 a
Natal	17	74,26 $\pm$ 3,89 ab	71,18 $\pm$ 5,81 a	52,85 $\pm$ 5,23 ab	0,67 $\pm$ 0,05 a
Pêra	17	71,77 $\pm$ 5,36 ab	65,45 $\pm$ 7,97 a	46,97 $\pm$ 7,63 ab	0,77 $\pm$ 0,08 a
Ponkan	19	75,22 $\pm$ 4,40 ab	76,39 $\pm$ 7,65 a	57,46 $\pm$ 7,08 ab	0,58 $\pm$ 0,07 a
Hamlin	15	56,83 $\pm$ 4,46 b	57,44 $\pm$ 9,61 a	32,64 $\pm$ 5,91 b	0,77 $\pm$ 0,11 a
Murta	18	85,74 $\pm$ 4,21 ab	74,99 $\pm$ 7,31 a	64,29 $\pm$ 7,19 a	0,74 $\pm$ 0,04 a

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

D. citri apresenta uma gama de hospedeiros, que incluem 21 espécies da família Rutaceae, embora nem todos os hospedeiros permitam o completo desenvolvimento do inseto (AUBERT, 1987).

Diferenças no desenvolvimento de *D. citri* foram observadas por Tsai e Liu (2000) em quatro hospedeiros distintos. Os autores obtiveram uma maior viabilidade do desenvolvimento total do inseto sobre toranja (*C. paradisi*) (84,5%) enquanto uma menor viabilidade foi obtida em laranja azeda (*C. aurantium*), com média de 68,5%. Não houve diferença significativa na duração ovo-adulto que variou de 16,88 a 17,61 dias para a toranja (*C. paradisi*) e limão (*Citrus jambhiri* Lush), respectivamente.

Nava et al. (2007), utilizando três hospedeiros, murta (*M. paniculata*), limão cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e tangerina Sunki [*Citrus sunki*, (Hayata)] observaram que os parâmetros relacionados à duração do ciclo ovo-adulto e a razão sexual não foram afetados pelos diferentes hospedeiros utilizados, porém a viabilidade foi inferior quando utilizou-se tangerina Sunki, com uma viabilidade ninfal de 44,6%.

A duração do desenvolvimento de *D. citri* pode ser influenciada pelo hospedeiro utilizado. Teck et al. (2011) observaram diferenças na duração ovo-adulto em função de três hospedeiros testados, murta (*M. paniculata*), curry (*M.*

koenigii) e tangerina (*C. reticulata*). O menor período de desenvolvimento ovo-adulto foi obtido em murta (18,5 dias) seguido da tangerina (19 dias), sendo o maior período obtido em curry (23 dias).

Em trabalho realizado por Tsagkarikis e Rogers (2010) comparando o desenvolvimento do psíldeo, nas cultivares laranja azeda (*C. aurantium*) e na tangerina (*Citrus reshni* Tanaka) variedade Cleópatra, os autores observaram diferença significativa no desenvolvimento ovo-adulto entre as cultivares, com duração de 18,47 dias para laranja azeda e de 19,67 dias para tangerina.

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, os hospedeiros que proporcionaram o melhor desenvolvimento aos psíldeos foram a variedade Valência e murta, nas quais foram obtidos as maiores viabilidades totais com 65,9% e 64,2%, respectivamente, porém esses diferiram estatisticamente apenas da variedade Hamlin onde observou-se a menor viabilidade total (32,6%), sendo, portanto, a variedade menos favorável ao desenvolvimento do psíldeo. Tais resultados podem indicar diferenças nutricionais entre os hospedeiros testados, influenciando o desenvolvimento de *D. citri*. De acordo com Teck et al. (2011), o desenvolvimento de *D. citri* está relacionado ao estado nutricional da planta hospedeira, principalmente na qualidade da seiva e na concentração de aminoácidos disponíveis.

Um resultado diferente do observado neste trabalho foi obtido para um outro sugador, a cochonilha pardinha, *Selenaspidus articulatus* (Morgan, 1889) (Hemiptera: Diaspididae) em estudo sobre sua biologia nas mesmas variedades (Hamlin, Natal, Pêra e Valência) (LOAYZA; PARRA; VENDRAMIM, 2003). Tais autores concluíram que a variedade Hamlin proporciona o melhor desenvolvimento do inseto, enquanto Valência comportou-se como a menos adequada à pardinha.

Embora os resultados do teste de livre escolha indiquem preferência de *D. citri* pela variedade Natal para alimentação e oviposição, ela não se mostrou a mais adequada quando avaliados os parâmetros de desenvolvimento do inseto obtidos nos estudos de biologia. Não necessariamente a variedade preferida é aquela que promove o melhor desenvolvimento do inseto (MAYHEW, 2001; WISE et al., 2008). Tal fato pode ser explicado pela presença no hospedeiro de compostos que podem prejudicar o desenvolvimento do inseto, sem, no entanto, afetar seu comportamento de escolha para alimentação e oviposição (WESTBROOK, et al., 2011).

A análise de agrupamento (Figura 7) separou três grupos distintos a 50% de distância, sendo o primeiro composto pelas variedades Ponkan, Natal e Pêra, o segundo por Valência e murta e o terceiro por Hamlin. De acordo com o desempenho apresentado por *D. citri* para os parâmetros avaliados, o grupo que reúne a variedade Valência e murta, é superior aos demais, podendo estas espécies serem consideradas hospedeiros mais adequados ao desenvolvimento do psíldeo. Por outro lado, a variedade Hamlin foi considerada como a menos adequada para o psíldeo, *D. citri*. As variedades Ponkan, Natal e Pêra comportaram-se como intermediárias para o desenvolvimento de *D. citri*.

Figura 7 - Fenograma comparativo de *D. citri* criadas em seis hospedeiros, resultado da análise de agrupamento com base nos parâmetros biológicos

O período de pré-oviposição também foi influenciado pelo hospedeiro testado. O período mais longo foi observado na variedade Ponkan (9,42 dias), e o mais curto na variedade Pêra, com um período de pré-oviposição de 8,42 dias. Para os demais hospedeiros utilizados não houve diferenças significativas para tal parâmetro (Figura 8). Nava et al. (2007) obtiveram valores diferentes dos que encontrados nesse

trabalho; em murta, foram necessários, em média, 11 dias de período de pré-oviposição.

O longo período de pré-oviposição é necessário às fêmeas de *D. citri*, uma vez que, tal espécie não apresenta ovários maduros após emergência (DOSSI; CONSOLI, 2010), sendo assim, um inseto sinovigênico.

Figura 8 – Período de pré-oviposição de *D. citri* criado em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Os diferentes hospedeiros afetaram a fecundidade de *D. citri*, sendo o maior número de ovos observado em murta (380,7 ovos), e nas variedades Ponkan e Valência, com médias de 366,6 e 361,9 ovos, respectivamente. Tais valores diferiram significativamente da variedade Hamlin que colocou o menor número de ovos (231,8 ovos) dentre as variedades estudadas (Figura 9).

Resultados semelhantes foram obtidos por Nava et al. (2007) em murta, com média de 348,4 ovos, já para os demais hospedeiros testados, o número de ovos variaram entre 265,1 a 166,2 para *C. limonia* e *C. sunki*, respectivamente. Porém, em trabalho realizado por Tsai e Liu (2000), em média, 626 ovos foram registrados em murta a 25°C , valor muito acima do que encontrado nesse trabalho. A variação encontrada entre esses valores podem estar relacionada a diversos fatores como:

número de brotações disponíveis para postura, que pode ser variável entre as espécies; diferenças populacionais de *D. citri* (“strains”) ou mesmo qualidade nutricional do hospedeiro.

A longevidade de machos de *D. citri* em todos os hospedeiros foi semelhante, variando de 29,2 e 31,9 dias nos hospedeiros, murta e ‘Natal’, respectivamente. A maior longevidade de fêmeas foi observada em murta (34,3 dias), enquanto na variedade Hamlin obteve-se a menor longevidade, com média de 28,3 dias; valores que diferiram estatisticamente dos demais (Figura 10). Resultado semelhante foi obtido por Nava et al. (2007) para longevidade de fêmeas em murta (32,2 dias) porém, um valor inferior ao encontrado no presente trabalho foi observado para longevidade de machos (23,1 dias). Tsai e Liu (2000) obtiveram longevidade de 39,7 dias para fêmeas criadas em murta; estes autores observaram ainda uma longevidade de 47,5 dias quando *D. citri* foi criado em *C. jambhiri*.

Figura 9 – Média de número de ovos de *D. citri* criados em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Com a tabela de vida de fertilidade, pode-se conhecer o potencial de crescimento de *D. citri* nos diferentes hospedeiros, sendo que a taxa líquida de reprodução na variedade Valência foi maior (116,68), ou seja, a cada geração a população do psíldeo pode aumentar 116 vezes. Em Hamlin, tal crescimento é de 45,3 vezes. A média de tempo de geração (T) de *D. citri* variou de 36,7 a 33,1 dias nas variedades Ponkan e Pêra, respectivamente. Para taxa intrínseca de aumento (r_m) e para razão finita de aumento (λ) os maiores valores foram obtidos na variedade Valência e os menores em Hamlin (Tabela 4).

Tsai e Liu (2007) em estudo comparativo com quatro hospedeiros distintos, concluíram que *C. paradisi* (toranja) foi o hospedeiro mais adequado, devido à maior taxa líquida de reprodução (R_0) e menor tempo de desenvolvimento (T).

Para Nava et al. (2007), murta proporcionou a *D. citri* uma maior taxa líquida de reprodução (92,15), enquanto em tangerina ‘Sunki’ registrou-se o menor valor (13,70).

De acordo com os resultados dos parâmetros obtidos na biologia e pela tabela de vida de fertilidade, a variedade Valência mostra-se como a mais adequada, enquanto Hamlin a menos apropriada ao desenvolvimento de *D. citri*. Esses resultados são importantes na epidemiologia do HLB, uma vez que, na variedade Valência obteve-se um aumento na população a cada geração superior àquele obtido nos demais hospedeiros, e ela é a variedade que corresponde a 28,5%, das variedades plantadas no Estado de São Paulo.

O melhor desenvolvimento e reprodução de *D. citri* foram observados na variedade Valência, tendo sido esta também a mais atrativa para o inseto. Estes resultados podem explicar porque ‘Valência’ é a variedade com maior incidência de HLB, com 62% em média de plantas infestadas com HLB no Estado de São Paulo (FUNDECITRUS, 2011).

Os resultados obtidos na presente pesquisa poderão fornecer subsídios para instalação de pomares novos de citros, especialmente na escolha de variedades a serem plantadas, com vistas à incidência e manejo do HLB.

Tabela 4 – Tabela de vida de fertilidade de *D. citri* em diferentes hospedeiros, em temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h*

Hospedeiros	Parâmetros da Tabela de Vida de Fertilidade			
	R_0	r_m	T (dias)	λ
Valência	$116,68 \pm 8,184$ a	$0,1380 \pm 0,0021$ a	$34,504 \pm 0,3381$ ace	$1,1480 \pm 0,0024$ a
Pêra	$84,53 \pm 8,529$ b	$0,1339 \pm 0,0028$ ac	$33,172 \pm 0,6761$ ade	$1,1433 \pm 0,0032$ ace
Ponkan	$89,09 \pm 7,099$ b	$0,1223 \pm 0,0024$ b	$36,722 \pm 0,2955$ b	$1,1301 \pm 0,0027$ b
Murta	$99,49 \pm 10,121$ ab	$0,1315 \pm 0,0020$ c	$35,013 \pm 0,5067$ ce	$1,1405 \pm 0,0024$ c
Hamlin	$45,27 \pm 2,796$ c	$0,1145 \pm 0,0016$ d	$33,331 \pm 0,1942$ d	$1,1213 \pm 0,0018$ d
Natal	$83,005 \pm 6,536$ b	$0,1289 \pm 0,0019$ c	$34,284 \pm 0,4010$ e	$1,1376 \pm 0,0021$ ec

*Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste t ao nível de 5 % de probabilidade, aplicado pelo método de Jackknife.

Figura 10 - Longevidade de machos e fêmeas de *D. citri* criados em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey Ao nível de 5% de probabilidade

4.3 Influência de variedades de citros sobre o parasitismo de *Tamarixia radiata*. (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)

4.3.1 Teste de preferência de parasitismo com chance de escolha

Não houve influência das variedades na preferência para parasitismo por *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri*, uma vez que, o parasitismo variou de 31,17 % em 'Valência' a 25,33% em 'Hamlin'. (Figura11).

O sucesso reprodutivo de um parasitoide é definido pela sua capacidade de localizar parceiros sexuais e hospedeiros (DICKE; GROSTAL, 2001). Assim, o comportamento de busca por hospedeiros por fêmeas de *T. radiata* está associado à liberação de voláteis induzidos por ninfas de *D. citri* (MANN et al. 2010). Segundo estes autores, as fêmeas são mais fortemente atraídas por plantas de citros infestadas com ninfas (ao invés de plantas ou ninfas isoladamente). Por outro lado, os machos responderam apenas a fêmeas.

Diferentes tipos de sensilas antenais podem ser encontrados em *T. radiata*, porém, a quantidade correspondente de cada tipo de sensila é variável entre

machos e fêmeas desses parasitoides, de modo que, o tipo de sensila mais abundante em fêmeas está associada à busca hospedeira, enquanto que no macho está relacionada à percepção de compostos sexuais (ONAGBOLA et al., 2009). Dessa forma, o conhecimento dos fatores que influenciam a busca hospedeira torna-se importante para essa espécie.

Resultados diferentes do obtido nesse trabalho foram relatados por Paiva (2009) em campo, com relação às quatro variedades de citros mais plantadas no Estado de São Paulo, pois o autor observou maior parasitismo na variedade Hamlin (35,6%), seguindo-se Pêra (19,2%), Valência (8,6%) e Natal, esta com um percentual de parasitismo, de apenas 7,3%. Tais diferenças podem estar relacionadas à população inicial de *D. citri* nas diferentes áreas do estado.

Figura 11 – Porcentagem de parasitismo ($\pm$ erro padrão) de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* criadas em quatro variedades cítricas. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

4.4 Biologia de *T. radiata* sobre *D. citri* criadas em diferentes hospedeiros

Os diferentes hospedeiros, nos quais ninfas de *D. citri* foram criadas, não afetaram os parâmetros parasitismo, viabilidade (ovo-adulto) e a razão sexual. Entretanto, um maior período de desenvolvimento foi observado na variedade Ponkan (12,04 dias) que não diferiu estatisticamente de murta (11,80 dias), porém diferindo das demais variedades cítricas (Tabela 5).

Segundo Barros e Vendramim (1999) algumas espécies vegetais podem levar a uma maior duração da fase ninfal de insetos, tornando-as mais vulneráveis aos inimigos naturais, devido ao aumento do tempo de exposição. Estes autores encontraram que certas variedades de repolho são mais favoráveis ao desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae), pois *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) demorou mais tempo para desenvolvimento nas referidas variedades. Tal fato também pode ocorrer em função de alguns compostos do metabolismo secundário e deficiência nutricional das plantas (BALLHORN et al., 2008; BUKOVINSZKY et al., 2009).

Tabela 5 – Médias ($\pm$ erro padrão) de parasitismo, viabilidade, duração e razão sexual de *T. radiata* sobre *D.citri* criado em diferentes hospedeiros. Temp. $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h

Hospedeiro	n	Parasitismo (%)	Viabilidade Ovo-adulto (%)	Duração Ovo-adulto (dias)	Razão sexual
Valência	16	21,87 $\pm$ 2,36 a	88,58 $\pm$ 2,75 a	11,42 $\pm$ 0,14 b	0,68 $\pm$ 0,04 a
Natal	16	24,25 $\pm$ 1,40 a	85,81 $\pm$ 2,58 a	11,41 $\pm$ 0,09 b	0,74 $\pm$ 0,04 a
Pêra	16	19,38 $\pm$ 2,45 a	90,06 $\pm$ 2,10 a	11,37 $\pm$ 0,11 b	0,66 $\pm$ 0,05 a
Ponkan	17	18,12 $\pm$ 1,25 a	80,75 $\pm$ 3,53 a	12,04 $\pm$ 0,16 a	0,77 $\pm$ 0,03 a
Hamlin	17	24,94 $\pm$ 2,59 a	85,04 $\pm$ 3,04 a	11,52 $\pm$ 0,11 b	0,69 $\pm$ 0,03 a
Murta	16	22,75 $\pm$ 2,29 a	85,47 $\pm$ 2,47 a	11,80 $\pm$ 0,12 ab	0,68 $\pm$ 0,03 a

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

Os resultados obtidos sugerem que é viável a utilização de *T. radiata* para controle de *D. citri*, independente da variedade utilizada, pois o seu comportamento de parasitismo é semelhante nas principais variedades de citros utilizadas em São Paulo.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos na presente pesquisa, pode-se concluir:

- 1) *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) prefere se alimentar e ovipositar, em teste de livre escolha, em 'Natal', sendo que no teste sem chance de escolha, a oviposição é semelhante nas variedades Natal, Valência e Pêra;
- 2) Nos dois tipos de testes realizados, livre escolha e confinamento, 'Hamlin' é a menos adequada para *D. citri*;
- 3) Com base nos diversos parâmetros avaliados, a análise de agrupamento, separa os hospedeiros em três grupos distintos, sendo 'Valência' e murta os hospedeiros mais adequados ao desenvolvimento de *D. citri*. No segundo grupo (Natal, Pêra e Ponkan) concentram-se as variedades que proporcionaram um desenvolvimento intermediário ao psílídeo, sendo 'Hamlin' a menos adequada ao desenvolvimento do inseto;
- 4) As variedades estudadas interferem apenas na longevidade das fêmeas, que é maior em 'Valência' e menor em 'Hamlin';
- 5) Com base na tabela de vida de fertilidade, a taxa líquida de reprodução (R_0) de *D. citri* foi 2,5 vezes maior quando criado em 'Valência' em relação a 'Hamlin'. Os demais parâmetros (T , λ e r_m) também favorecem o inseto quando criado em 'Valência';
- 6) As variedades estudadas não afetam o parasitismo e desenvolvimento de *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *D. citri*.

REFERÊNCIAS

- AMMAR, E.D.; SHATTERS Jr. R.G.; HALL, D.G. Localization of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, Associated with Citrus Huanglongbing Disease, in its Psyllid Vector using Fluorescence in situ Hybridization. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 159, p. 726-734, 2011.
- ANDERSON, S.S.; McCREA, K.D.; ABRAHAMSON, W.G.; HARTZEL, L.M. Host Genotype Choice by the Ball Gallmaker *Eurosta Solidaginis* (Diptera: Tephritidae). **Ecology**, Ithaca, v. 70, n. 4, p. 1048-1054, 1989.
- AUBERT, B. *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, n. 42, p. 149-162, 1987.
- AWMACK, C.S.; LEATHER, S.R. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 47, p. 817-844, 2002.
- BALLHORN, D.J.; KAUTZ, S.; LION, U.; HEIL, M. Trade-offs between direct and indirect defences of lima bean (*Phaseolus lunatus*). **Journal of Ecology**, Oxford, v. 96, p. 971-980, 2008.
- BARROS, R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de cultivares de repolho utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 469-476, 1999.
- BASSANEZI, R B.; LOPES, S.A.; BELASQUE Jr.J.; SPÓSITO, M.B.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A. Epidemiologia do Huanglongbing e suas implicações para o manejo da doença. **Citrus Research and Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 11-23, 2010
- BELASQUE Jr. J.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; BASSANEZI, R.B.; AYRES, A.J.; BOVÉ, J.M. Controle do Huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research and Technology**, Cordeirópolis, v.31, n.1, p. 53-64, 2009a.
- BELASQUE Jr. J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R.B.; BARBOSA, J.C.; GIMENES FERNANDES, N. ;YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A. MACHADO, M.A. LEITE Jr. R P.;AYRES, J.A. MASSARI, C.A. Base científica para erradicação de plantas sintomáticas de assintomáticas de Huanlongbing (HLB, greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, p. 137-145, 2009b.

BELASQUE Jr.,J.; BASSANEZI, R.B.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; TACHIBANA, A.; VIOLANTE, A.R.; TANK Jr. A.; GIORGIS, F.; 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.

BENTO, J.M.S.; NARDI, C. Bioecologia e nutrição vs ecologia química: as interações multitróficas mediadas por sinais químicos. In: PANIZZU, A.R.; PARRA, J.R.P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos – Base para o manejo integrado de pragas**. São Paulo: Manole, 2009. cap.7, p. 278-298.

BLOWERS, J.R.; MORAN, V.C. Notes on the female reproductive system of the south African citrus Psylla, *Trioza erythrae* (Del Guercio) (Homoptera: Psyllidae). **Journal of Entomological Society of South African**, Hatfield, v. 30, n. 1, p. 75-81, 1967.

BOTTRELL, D.G.; BARBOSA, P. Manipulating natural enemies by plant variety selection and modification: A realistic strategy?. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 43, p. 347-367, 1998.

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.

BUKOVINSZKY, T.; POELMAN, E.H.; GOLS, R.; PREKATSAKIS, G.; VET. L.E.M. Consequences of constitutive and induced variation in plant nutritional quality for immune defence of a herbivore against parasitism. **Oecologia**, Heidelberg, v. 160, p. 299-308. 2009.

CAPOOR, S.P.; RAO, D.G.; VISWANATH, S.M. Greening disease of citrus in the Deccan Trap Country and its relationship with the vector, *Diaphorina citri* Kuwayama. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL CITRUS VIROLOGY, 6., 1974, Riverside. **Proceedings**...Riverside: University of California, 1974.

CAVALCANTI, M.G.; VILELA, E.F.; EIRAS, A.E.; ZANUNCIO, J.C.; PICANÇO, M.C. Interação Tritrófica entre *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae), Eucalyptus e Lagartas de *Thyrintina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae): I Visitação. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 29, n.4, p. 697-703, 2000.

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* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 95, n. 2, p. 304-311, 2012.

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

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**, St. Paul, v. 89, p. 1382, 2004.

COLETTA-FILHO, H.D.; TAKITA, M.A.; TARGON, M.L.P.N.; MACHADO, M.A. Analysis of 16S rDNA sequences from Citrus Huanglongbing Bactéria Reveal a different "Ca. Liberibacter" Strain associated with Citrus Disease in São Paulo. **Plant Disease**, St. Paul, v. 89, n. 8, p. 848-852, 2005.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA (CDA). Disponível em: <<http://www.defesaagropecuaria.sp.gov.br/www/gdsv/index?action=dadosCitriculturaPaulista>>. Acesso em: 15 out. 2012.

DAMSTEEGT, V.D.; POSTNIKOVA, E.N.; STONE, A.L.; KUHLMANN, M.; WILSON, C.; SECHLER, A.; SCHAAD, N.W.; BRLANSKY, R.H.; SCHENEIDER, W.L. *Murraya paniculata* and related species as potential hosts and inoculum reservoirs of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" causal agent of Huanlongbing. **Plant Disease**, St. Paul, v. 94, n. 5, p. 528-533, 2010.

DICKE, M.; GROSTAL, P. Chemical Detection of Natural Enemies by Arthropods: An Ecological Perspective. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 32, p. 1-23, 2001.

DONADIO, L.C.; FIGUEIREDO, J.O.; PIO, R.M. **Variedades cítricas brasileiras**. Jaboticabal: Funep, 1995. 228p.

DOSSI, F.C.A.; CÔNSOLI, F.L. Desenvolvimento ovariano e influência da cópula na maturação dos ovários de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 3, p. 414-419, 2010.

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.

FIGUEIREDO, J.O. Variedades copas. In: RODRIGUEZ, O.; VIEGAS, F. (Eds.). **Citricultura brasileira**. Campinas: Fundação Cargill, 1991. v.1, p. 228-257.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. **Agrianual 2011**: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2011. 520p.

FUNDECITRUS. 2011. Disponível em: [http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Greening-\(HLB\)](http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Greening-(HLB)), 35. Acesso em: 07 ago. 2012.

GOLS, R.; HARVEY, J.E. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. **Phytochemistry Reviews**, Dordrecht, v. 8, p. 187-206, 2009.

GOMEZ-TORRES, M.L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)** para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae). 2009. 138p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2009.

GOMEZ-TORRES, 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.

GOTTWALD, T.R. Current Epidemiological Understanding of Citrus Huanglongbing. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 48, p. 119-139, 2010.

GRAÇA, J.V. da. Citrus Greening Disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 109-139, 1991.

GRAÇA, J.V. da.; SETAMOU, M.; SKARIA, M.; KUNTA, M. Citrus Greening Disease (HLB) confirmed in Texas. **Citrus Center Newsletter**, Welasco, p.1-3, 20 mai 2012.

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.

HORNER, J.D.; ABRAHAMSON, W.G. Influence of plant genotype and environment on oviposition preference and offspring survival in a gallmaking herbivore. **Oecologia**, Heidelberg, v. 90, p. 323-332, 1992.

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**, Chichester, v. 155, p. 29-36, 2009

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

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.

LOAYAZA, R.M.; PARRA, J.R.P.; VENDRAMIM, J.D. Biologia comparada de *Selenaspidus articulatus* (Morgan) (Hemiptera: Diaspididae) em cultivares de *Citrus sinensis* e em *Citrullus silvestris*. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 3, p. 493-496, 2003.

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.

MAIA, A.H.N.; LUIZ, A.J.B. **Programa SAS para Análise de Tabelas de Vida e Fertilidade de Artrópodes: o Método Jackknife**. Jaguariúna: Embrapa, 2006. 11p. (Comunicado Técnico, 33).

MANN, R.S.; QURESHI, J.A.; STANSLY, P.A.; STELINSKI, L.L. Behavioral Response of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) to Volatiles Emanating from *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) and Citrus. **Journal Insect Behavior**, New York, v. 23, p. 477-458, 2010.

MANN, R.S.; PELZ-STELINSKI, K.; HERMANN, S.L.; TIWARI, S.; STELINSKI, L.L. Sexual transmission of a plant pathogenic bacterium, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, between, conspecific insect vectors during mating. **Plos One**, San Francisco, v. 6, n. 12, 2011.

MAYHEW, P.J. Herbivore host choice and optimal bad motherhood. **Trends in Ecology & Evolution**, London, v. 16, n. 4, p. 165-167, 2001.

McFARLAND, C.D.; HOY, M.A. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under different relative humidities and temperature regimes. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 84, p. 227-233, 2001.

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

MEIJDEN, E. van der. Plant defence, an evolutionary dilemma: contrasting effects of (specialist and generalist) herbivores and natural enemies. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 80, p. 307-310, 1996.

MENSAH, R.K.; MADDEN, J.L. Technique for mass rearing *Ctenarytaina thysanura* (Ferris & Kliver) (Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Australian Entomological Society**, Richmond, v. 30, p. 267-268, 1991.

MICHAUD, J.P. Biological control of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in Florida: a preliminary report. **Entomological News**, Philadelphia, v. 113, p. 216-222, 2002.

_____. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 29, p. 260-269, 2003.

_____. Suitability of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) as prey for ladybeetles (Coleoptera: Coccinellidae). **Biocontrol**, Dordrecht, v. 49, p. 417-341, 2004.

MORAES, C.M.; LEWIS, W.J.; TUMLINSON, J.H. Examining plant-parasitoid interactions in thritrophic systems. **Anais da Sociedade Brasileira de Entomologia**, Londrina, v.29, n.2, p. 189-203, 2000.

MORAN V.C.; BUCHAN, P.R. Oviposition by the citrus psylla, *Trioza erytreae* (Homoptera: Psyllidae), in relation to leaf hardness. **Entomologia Experimentalis Applicata**, Oxford, v. 18, p. 96-104, 1975.

MUNYANEZA, J.E.; CROSSLIN, J.M.; UPTON, J.E. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with “Zebra Chip” a New Potato Disease in Southwestern United States and Mexico. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.100, n. 3, p.656-663, 2007.

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

NEVES, M.F. **O Retrato da Citricultura Brasileira**. Ribeirão Preto: Markestrat, 2011. 71p.

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 the Entomological Society of America**, Lanham, v. 102, n. 3, p. 523-531, 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. 138p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2009.

PARRA, J.R.P.; TORRES, M.L.G.; PARRA-PEDRAZZOLI, A.L.; PINTO, A.S. Controle biológico de pragas do citros. In: YAMAMOTO, P.T. (Ed.). **Manejo integrado de pragas dos citros**. Piracicaba: Fundecitrus, 2008. cap. 2, p. 35-65.

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.

PATT, J.M.; SÉTAMOU, M. Olfactory and visual stimuli affecting host plant detection in *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 36, n.1, p. 142-150, 2007.

_____. Responses of the Asian citrus psyllid to volatiles emitted by flushing shoots of its rutaceous host plants. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 39, p. 618-624, 2010.

PELZ-STELINSKY, K.S.; BRLANSKY, R.H.; EBERT, T.A.; 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.

PIO, R.M.; FIGUEIREDO, J.O.; STUCHI, E.S.; CARDOSO, S.A.B. Variedades copas. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. **Citros**. Cordeirópolis: IAC, 2005. cap. 3, p. 37-60

PLUKE, R.W.H.; 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.

PLUKE, R.W.H.; ESCRIBANO, A.; MICHAUD, J.P.; STANSLY, P.A. Potential impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Puerto Rico. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 88, n. 2, p. 123-128, 2005.

PRICE, P.W. Evolutionary Theory of Host and Parasitoid Interactions. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 1, p. 83-86, 1991.

PRICE, P.W.; BOUTON, C.E.; GROSS, P.; MCPHERON, B.A.; THOMPSON, J.N.; WEIS, A.E. Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. **Annual Review of Ecology And Systematics**, Palo Alto, v. 11, p. 41-65, 1980.

QURESHI, J.A.; STANSLY, P.A. Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 50, p. 129-136, 2009.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna , 2012. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 10 jul. 2012

ROGERS, M.E.; STANSLY, P.A. **Biology and management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, in Florida Citrus**. Gainesville: University of Florida, 2012. 6p. (IFAS Extension, ENY-739).

SAS INSTITUTE. **SAS system: SAS/STAT version 9.1**. Cary, 2003.

SAUNT, J. **Citrus varieties of the world: an illustrated guide**. Norwich: Sinclair International, 1990. 128p.

SCHOONHOVEN, L.M.; VAN LOON, J.J.A.; DICKE, M. **Insect Plant Biology**. Wageningen: Oxford University, 2005. 440p.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de Ecologia dos Insetos**. Piracicaba: Ceres, 1976. 420p.

SPÓSITO, M.B.; BASSANEZI, R.B. Manejo de doenças dos citros. In: SENE PINTO, A.; ZACCARO, R.P. (Org.). **Produção de mudas e manejo fitossanitário dos citros**. Piracicaba, 2008. p. 87-108.

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.; 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. **Phytopatology**, St. Paul, v. 98, n. 9, p.977-984, 2008.

THOMPSON, J.N. Evolutionary, ecology of the relationships between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Oxford, v. 47, p. 3-14, 1988.

TSAGKARAKIS, A.E.; ROGERS, M.E. Suitability of 'Cleopatra' Mandarin as a host plant for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 93, n. 3, p. 451-453, 2010.

TSAI, J.H.; LIU, Y.H. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 93, n. 6, p.1721-1725, 2000.

TUMLINSON, J.H.; TURLINGS, T.C.J.; LEWIS, W.J. Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insect. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, Hoboken, v. 22, p. 385-391, 1993.

VENDRAMIM, J.D. O controle biológico e a resistência de plantas. In: PARRA, J.R.P; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. **Controle Biológico no Brasil Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 30, p.511-521.

VET, L.E.M.; DICKE, M. Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 141-172, 1992.

WALTER, A.J; HALL, D.G; DUAN, Y.P. Low incidence of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" in *Murraya paniculata* and associated *Diaphorina citri*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 96, n. 6, p.141-172, 2012.

WENNINGER, E.J.; STELINSKI, L.L.; HALL, D.G. Role of olfactory cues, visual cues, and mating status in orientation of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) to four different host plants. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 38, n. 1, p. 225-234, 2009.

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

WHITE, T.C.R. Uptake of water by eggs of *Cardiaspina densitexta* (Homoptera: Psyllidae) from leaf of host plant. **Journal Insect Physiology**, Oxford, v. 14, p. 1669-1683, 1968.

WISE, M.J.; PARTELOW, J.M.; EVERSON, K.J.; ANSELMO, M.K.; ABRAHAMSON, W.G. Good mothers, bad mothers, and the nature of resistance to herbivory in *Solidago altissima*. **Oecologia**, Heidelberg, v. 155, p. 257-266, 2008.

YAMAMOTO, P.T.; PARRA, J.R.P. Manejo integrado de pragas dos citros. In: MATTOS JR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag, 2005. p.729-768.