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

Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo

Paulo Eduardo Branco Paiva

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

**Piracicaba
2009**

Paulo Eduardo Branco Paiva
Engenheiro Agrônomo

**Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de
Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**

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

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

**Piracicaba
2009**

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

Paiva, Paulo Eduardo Branco

Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayana (Hemiptera : Psyllidae) em citros em São Paulo / Paulo Eduardo Branco Paiva . -
- Piracicaba, 2009.
64 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2009.
Bibliografia.

1. Bactérias fitopatogênicas 2. Controle biológico 3. Ecologia animal 4. Greening (Doença de planta) 5. Hemiptera 6. Insetos vetores 7. Laranja 8. Tabelas de vida I. Título

CDD 632.75
P149d

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

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra, pela inesquecível orientação, amizade e confiança nesses oito anos de intensa vida entomológica

Aos professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, especialmente aos grandes entomologistas do Setor de Entomologia e demais docentes do programa, pelas aulas e agradável convívio

Ao Biólogo Fábio Di Giorgi, pelas discussões, sempre estimulantes, amizade, incentivo e valiosa oportunidade

Ao Engenheiro Agrônomo Antonio Celso Sanches, pela amizade e o grande incentivo no caminho da pós-graduação

Aos amigos e colegas da Pós-graduação em Entomologia, pela troca de idéias, amizade e companheirismo

Ao Engenheiro Agrônomo e citricultor José Eduardo Mazzonetto Teófilo pelo pomar cedido para área experimental

Aos que contribuíram para a coleta dos dados dos experimentos

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
1 INTRODUÇÃO.....	7
2 DESENVOLVIMENTO.....	8
2.1 Revisão bibliográfica.....	8
2.1.1 Importância de <i>Diaphorina citri</i>	8
2.1.2 Distribuição temporal e espacial de <i>D. citri</i>	10
2.1.3 Inimigos naturais de <i>D. citri</i>	12
2.1.4 Tabela de vida ecológica e bioecologia de <i>D. citri</i>	15
2.2 Material e métodos.....	18
2.2.1 Distribuição temporal de <i>Diaphorina citri</i> em pomares de laranja (<i>Citrus sinensis</i>).....	18
2.2.2 Distribuição espacial de <i>D. citri</i> em pomares de laranja (<i>C. sinensis</i>).....	19
2.2.3 Levantamento de inimigos naturais de <i>D. citri</i> em pomares de laranja (<i>C. sinensis</i>).....	21
2.2.4 Tabela de vida ecológica de <i>D. citri</i> em pomares de laranja (<i>C. sinensis</i>).....	21
2.3 Resultados e discussão.....	24
2.3.1 Distribuição temporal de <i>D. citri</i> (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de laranja (<i>C. sinensis</i>).....	24
2.3.2 Distribuição espacial de <i>D. citri</i> em ramos em crescimento de <i>C. sinensis</i> em São Paulo.....	33
2.3.3 Levantamento de inimigos naturais de <i>D. citri</i> em pomares de laranja (<i>C. sinensis</i>).....	38
2.3.3.1 Predadores.....	38
2.3.3.2 Fungos.....	39
2.3.3.3 Parasitóides.....	40
2.3.4 Tabela de vida ecológica de <i>D. citri</i> em pomares de laranja (<i>C. sinensis</i>).....	46
3 CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

RESUMO

Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo

O "huanglongbing" (HLB), ou "greening" dos citros, tem sido considerada a pior e mais destrutiva doença que ocorre em cultivares comerciais de citros do mundo. Até hoje, não se conhecem medidas eficientes para o controle da doença. Apesar disso, são recomendadas três medidas que podem reduzir a disseminação da mesma, (1) propagação de material sadio, (2) eliminação de planta sintomática tão logo seja constatada e (3) redução da população do vetor, o psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama. O HLB foi constatado no Brasil, no estado de São Paulo, em março de 2004. Desde então, foram constatadas duas bactérias associadas a plantas com sintomas, "*Candidatus Liberibacter americanus*" e "*Candidatus Liberibacter asiaticus*", ambas transmitidas por *D. citri*. A proposta deste trabalho foi estudar: (1) a distribuição temporal deste inseto em pomares comerciais de laranja (*Citrus sinensis*) nas regiões de Araras, Bauru, Botucatu, Casa Branca, Lins e São Carlos, estado de São Paulo, no período de julho de 2004 a junho de 2007, (2) a distribuição espacial de *D. citri* em Bauru, Botucatu, Franca, Lins e São Carlos com base na relação variância/média, coeficiente de Taylor e índice de Morisita, (3) inimigos naturais de *D. citri* e taxas de parasitismo de ninfas do psíldeo por *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em diferentes pomares, no período de 2005 a 2007 e (4) a tabela de vida ecológica das fases imaturas deste inseto, em Araras e Piracicaba, por quatro gerações. As proporções de ramos de *C. sinensis* infestados por ninfas e adultos do psíldeo variaram de 0 a 68,3% e se mostraram dependentes da disponibilidade de ramos em crescimento (novos), embora o tamanho da população seja dependente do clima. A maior infestação de ninfas foi observada em São Carlos e as maiores infestações de adultos ocorreram em Bauru, Botucatu, Lins e São Carlos. Por outro lado, as menores proporções de ramos infestados foram observadas em Araras e Casa Branca. *D. citri* mostrou uma distribuição do tipo agregada, tanto para a fase ninfal quanto para a fase adulta. Não foram observados coccinélídeos predando ovos ou ninfas do psíldeo. A predação de *D. citri* por crisopídeos foi muito baixa nas condições estudadas. As taxas médias de parasitismo de ninfas, de quarto e quinto ínstaes, por *T. radiata* variaram entre as áreas amostradas e épocas, de 0 a 91,6%, sendo tal parasitismo variável de acordo com a cultivar de citros. Na tabela de vida ecológica, verificou-se que as durações do período de ovo a adulto, em campo, foram semelhantes entre as quatro gerações, de 18,0 a 24,7 dias (temperaturas médias de 21,6 a 26,0°C) e seguiram os modelos de exigências térmicas do inseto obtidos em laboratório. Entretanto, as viabilidades deste mesmo período variaram consideravelmente, de 1,7 a 21,4%, sendo que as maiores mortalidades foram verificadas nas fases de ovo e ninfa pequena (primeiro a terceiro ínstaes), as quais são consideradas fatores chaves para o crescimento populacional da praga.

Palavras-chave: HLB; Greening; Ecologia; Laranja; Psíldeo

ABSTRACT

Spatial and seasonal distribution, natural enemies and ecological life table of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in citrus groves in São Paulo

Huanglongbing (HLB), or citrus greening disease, has been considered the worst and most destructive disease that occurs in all citrus varieties in the world. Until today, effective control measures are unknown. However, three main measures have been recommended that may reduce the spread of the disease: (1) propagation of healthy plants; (2) elimination of symptomatic trees as soon as they are observed; and (3) reduction of the insect vector population, the citrus psylla *Diaphorina citri* Kuwayama. HLB was first found in Brazil in the State of São Paulo in March 2004. Since then, two bacteria were found associated with plants with symptoms, "*Candidatus* Liberibacter americanus" and "*Candidatus* Liberibacter asiaticus", both transmitted by *D. citri*. This research aimed to study: (1) the seasonal distribution of *D. citri* in citrus groves (*Citrus sinensis*) in Araras, Bauru, Botucatu, Casa Branca, Lins and São Carlos, State of São Paulo, from July 2004 through June 2007; (2) the spatial distribution of *D. citri* in Bauru, Botucatu, Franca, Lins and São Carlos according to the variance/mean ratio, Taylor's power law coefficients, and Morisita's index; (3) natural enemies of *D. citri* and parasitism rates of citrus psylla nymphs by *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) in different groves in three years, 2005, 2006, and 2007; and (4) the ecological life table of the immature stages of this insect, in Araras and Piracicaba, over four generations. The proportions of *C. sinensis* flushes or branches infested with nymphs and adults of citrus psylla ranged from 0 to 68.3%, and were dependent on the availability of new flushes, although population size depends on the climate. The largest infestation of nymphs was observed in São Carlos and the largest infestations of adults occurred in Bauru, Botucatu, Lins, and São Carlos. On the other hand, the lowest proportions of infested flushes or branches were observed in Araras and Casa Branca. *D. citri* nymphs and adults showed an aggregate distribution. No coccinellids were observed preying on eggs and nymphs of *D. citri*. Predation of *D. citri* by lacewings was very low under the conditions studied. The average parasitism rates of fourth- and fifth-instar nymphs by *T. radiata* varied among the sampled areas and seasons from 0 to 91.6%, and also varied with citrus variety. In the ecological life table, the mean developmental period from egg to adult in the field was similar between the four generations, 18.0 to 24.7 days (average temperatures of 21.6 to 26.0°C) and values were not different from the thermal requirement models obtained in the laboratory. However, immature survival ranged considerably, from 1.7 to 21.4%, and the highest mortalities were observed in eggs and small nymphs (first to third instars), which are considered the key factors for population growth of the pest.

Keywords: HLB; Citrus greening; Ecology; Orange; Citrus psylla

1 INTRODUÇÃO

O psilídeo-dos-citros, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), também conhecido como psilídeo asiático, tem ampla distribuição geográfica, podendo atualmente ser considerado um inseto cosmopolita e de importância mundial. Relatado pela primeira vez no Brasil na década de 40 (COSTA LIMA, 1942), era considerado de importância secundária até a confirmação do "huanglongbing" (HLB), ou "greening" dos citros, em São Paulo em 2004 (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005), doença vascular causada pelas bactérias "*Candidatus Liberibacter* spp.", limitadas ao floema e transmitidas por este inseto.

Os danos diretos causados pela ocorrência de *D. citri* em citros, principalmente com altas populações de ninfas, têm sido referidas como deformações de folhas em crescimento, seca de brotações, queda de folhas e presença de fumagina (HODKINSON, 1974; AUBERT, 1987b; BERGMANN et al., 1994; HOY; NGUYEN, 2001; MICHAUD, 2004).

Apesar dos danos diretos, é como vetor dos fitopatógenos causais do HLB que *D. citri* ganhou importância em citros, tornando-se o principal inseto-praga desta cultura. No Brasil, foram identificadas duas bactérias limitadas ao floema vegetal, associadas a plantas com sintomas de HLB, "*Candidatus Liberibacter americanus*" e "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005). Considerada a mais destrutiva e séria doença dos citros no mundo (DA GRAÇA, 1991; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006), não se conhece ainda uma forma eficiente de controle nas regiões onde ocorre, notadamente o HLB asiático, causado por "*Ca. L. asiaticus*".

D. citri ocorre preferencialmente nos ramos novos de plantas da família Rutaceae, principalmente *Citrus*. Os ovos são depositados em gemas recém brotadas, sendo que as ninfas têm desenvolvimento sincronizado com o crescimento dos ramos. Os insetos adultos são observados mais frequentemente associados a ramos em crescimento, porém podem se alimentar de folhas maduras. A disponibilidade de tais ramos tem sido o principal fator determinante à ocorrência e ao crescimento populacional deste inseto (YAMAMOTO et al., 2001; TSAI et al., 2002).

Estudos de ecologia, especialmente de flutuação populacional, de *D. citri* são escassos e podem ajudar no controle deste inseto. Tabelas de vida ecológicas são úteis no estudo da dinâmica populacional de insetos (HARCOURT, 1969), pois proporcionam o entendimento de mudanças na população de uma espécie ao longo do tempo no seu ambiente natural, sob condições climáticas naturais e interagindo com os demais organismos locais.

Propôs-se neste trabalho estudar as distribuições temporais e espaciais de *D. citri* em pomares comerciais de laranja (*Citrus sinensis*), em seis regiões, bem como os fatores de mortalidade e os agentes de controle biológico associados a este psílídeo em São Paulo, com base em uma tabela de vida ecológica desenvolvida nas regiões de Araras e Piracicaba, visando fornecer subsídios ao controle do vetor do HLB, *D. citri*.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

2.1.1 Importância de *Diaphorina citri*

A espécie *Diaphorina citri* Kuwayama é referida no Brasil desde a década de 40 (COSTA LIMA, 1942). Originária, provavelmente, da Ásia, atualmente tem ampla distribuição geográfica nos continentes asiático (BOVÉ, 2006) e americano (HALBERT; NUNEZ, 2004). Por ser um inseto sugador, ocorrendo em ramos novos de plantas da família Rutaceae, especialmente nas do gênero *Citrus*, tem causado danos diretos quando ocorre em altas infestações, notadamente na fase ninfal.

Os danos diretos de insetos da superfamília Psylloidea são atribuídos à injeção de saliva tóxica que pode causar anormalidades no crescimento de partes da planta atacada (HODKINSON, 1974). A retirada de seiva elaborada das plantas hospedeiras pelas ninfas resulta em deformação de folhas, ao lado da fumagina em folhas e frutos, favorecida pela presença de honeydew (AUBERT, 1987b).

A seca de brotações pode ser causada pelas altas infestações de *D. citri*, associada à presença de cera com aspecto de flocos, produzida pelas ninfas

(BERGMANN et al., 1994). Em condições de altas populações, pode haver abscisão de folhas e mesmo de todo o ramo infestado (HOY; NGUYEN, 2001). Além disso, deformações foliares irreversíveis foram notadas após a alimentação de uma única ninfa por menos de um dia (MICHAUD, 2004). Apesar de ter certa importância pelo dano direto, é como vetor de fitopatógenos associados ao "huanglongbing", ou HLB, que o psílídeo *D. citri*, passou a ser considerado como o principal inseto-praga em citros no Brasil. Dois patógenos foram recentemente constatados no Brasil, em 2004, o asiático "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" (COLETTA-FILHO et al., 2004) e o americano "*Candidatus Liberibacter americanus*" (TEIXEIRA et al., 2005). Tanto o patógeno associado ao HLB asiático (CAPOOR et al., 1974; AUBERT, 1987b) quanto o patógeno do HLB americano (YAMAMOTO et al., 2006) foram transmitidos experimentalmente por *D. citri*, de citros para citros.

O HLB é atualmente considerada a pior e mais destrutiva doença dos citros onde ocorre e uma grave ameaça para as áreas de cultivo ainda livres desta doença (DA GRAÇA, 1991; HALBERT; MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006).

As primeiras avaliações quantitativas do dano desta doença em condições brasileiras mostraram reduções de 70% na produção de frutos, em plantas de quatro a seis anos de idade e com mais de 60% da copa com sintomas de HLB. A redução na produção de frutos foi diretamente proporcional à área da planta com sintomas desta doença (BASSANEZI et al., 2006).

As características da transmissão destes patógenos por *D. citri* não foram ainda estudadas nas condições brasileiras, mas este inseto se mostrou um vetor muito eficiente de "*Ca. L. asiaticus*" na Ásia. Grupos de 5 psílídeos adultos foram capazes de transmitir o patógeno para 45 das 50 plantas testadas após um período de acesso à aquisição de apenas 15 minutos (CAPOOR et al., 1974). Foi observado um período de latência do patógeno asiático no inseto vetor de 8 a 12 dias após o acesso à aquisição. Porém, os insetos se mantiveram infectivos por toda vida. Assim, os resultados obtidos por Capoor et al. (1974) sugerem que a relação deste patógeno com o vetor possa ser do tipo propagativa e circulativa.

O patógeno asiático também se mostrou persistente em *D. citri*, em testes moleculares, por 12 semanas após o acesso à aquisição. Entretanto, não houve

transmissão do patógeno de fêmeas infectadas para a progênie (HUNG et al., 2004). Os autores verificaram também que todos os estágios ninfais, exceto o primeiro, foram capazes de adquirir o patógeno asiático durante a alimentação.

As características da transmissão do patógeno americano, "*Ca. L. americanus*", por *D. citri* ainda não foram estudadas no Brasil, já que este patógeno foi recentemente descoberto.

A despeito da provável alta eficiência de transmissão em condições experimentais, a proporção de insetos infectivos em populações naturais é variável e provavelmente dependente do inóculo da doença na área. Resultados opostos foram obtidos recentemente no sul dos EUA. Menos de 0.05% dos insetos coletados em pomares de laranja, de setembro de 2005 a janeiro de 2006, e analisados por técnicas moleculares, apresentaram-se positivos para "*Ca. L. asiaticus*" (MEYER et al., 2007b). Por outro lado, proporções altas, de até 30%, de insetos positivos, para o mesmo patógeno, foram observadas no período de setembro a dezembro de 2005, com grande ocorrência de ninfas e adultos positivos (MANJUNATH et al., 2008).

2.1.2 Distribuição temporal e espacial de *D. citri*

Em condições tropicais, várias gerações de psíldeos podem ser observadas ao longo do ano, com taxas de crescimento influenciadas pelo clima e pelas condições das plantas hospedeiras (HODKINSON, 1974).

Para *D. citri*, a altitude, temperaturas máximas e mínimas, umidades relativas do ar e as precipitações pluviais são importantes à ocorrência e ao desenvolvimento deste inseto (AUBERT, 1987b).

No Brasil, o psíldeo *D. citri*, se mostrou uma espécie constante em pomares de laranja do estado de São Paulo, sendo observado em mais de 50% das amostragens. E se mostrou mais abundante do que várias espécies de cicadelídeos, incluindo as espécies vetoras de *Xylella fastidiosa* Wells em citros, agente causal da Clorose Variegada dos Citros (CVC) (YAMAMOTO; GRAVENA, 2000).

A distribuição temporal de adultos de *D. citri* foi variada entre as áreas estudadas. Mas em geral, as maiores densidades de adultos foram observadas no final

da primavera e início do verão, quando ramos novos eram abundantes em pomares de laranja, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, de São Paulo (YAMAMOTO et al., 2001). Os principais fatores que permitiram a ocorrência deste inseto foram a disponibilidade e a abundância de novos fluxos vegetativos.

Dois principais fatores ecológicos parecem influenciar o desenvolvimento deste inseto em citros, os fluxos vegetativos e a temperatura (ROGERS; STANSKY, 2007). As populações foram correlacionadas positivamente com a presença dos fluxos vegetativos, nos EUA. Temperaturas mínimas maiores, bem como as precipitações pluviais favoreceram o surgimento destes fluxos vegetativos e indiretamente a densidade de *D. citri* nestas condições (TSAI et al., 2002).

Podem ocorrer várias gerações de *D. citri* durante o ano. Na China, ocorreram três picos populacionais anuais, um na primavera, outro no verão e o terceiro no outono, coincidindo com as emissões de ramos novos (YANG et al., 2006).

Condições climáticas extremas, de alta temperatura e baixa umidade relativa do ar, constituindo um alto déficit de pressão de vapor, podem causar alta mortalidade de ovos e ninfas de primeiro ínstar do psíldeo *Trioza erytreae* (Del Guercio), vetor do patógeno do HLB africano. No entanto, o tamanho da população deste psíldeo não se correlacionou com este déficit (SAMWAYS, 1987). Além do déficit de pressão de vapor, foram considerados fatores chaves à sobrevivência de *T. erytreae*, o ritmo de emissão de ramos e seus inimigos naturais (VAN DEN BERG, 1990).

As distribuições espaciais de insetos podem ter significado biológico, como a exploração de recursos para alimentação e oviposição por *D. citri*, que usa ramos em crescimento para tais atividades. Assim, a distribuição temporal e espacial destes insetos deve seguir a distribuição dos fluxos vegetativos que ocorrem nos citros e demais plantas hospedeiras.

Grande variação dos fluxos vegetativos ao longo do tempo foi observada em dois tipos de citros, em pomelo cultivar Marsh (*Citrus paradisi* Macfadyen) e em tangor cv. Temple [*C. reticulata* Blanco X *C. sinensis* (L.)]. Houve uma distribuição aleatória dos fluxos vegetativos em plantas de pomelo jovem (2,5 anos de idade) e levemente agregada em tangor em produção (36 anos) (HALL; ALBRIGO, 2007). Os autores

desenvolveram um método para estimar a densidade e a distribuição dos fluxos vegetativos visando ao controle de insetos-pragas associados a estes fluxos.

Na planta ornamental murta, *Murraya paniculata* (L.) Jack, adultos de *D. citri*, apresentaram distribuição do tipo agregada, considerando-se os seguintes índices de dispersão: a lei de potência de Taylor, o índice de Iwao e o parâmetro k da distribuição binomial negativa (TSAI et al., 2000).

Outros insetos sugadores em citros, cicadelídeos e afídeos, associados a ramos em crescimento, também vetores de fitopatógenos vasculares, foram estudados nas condições brasileiras e mostraram distribuição espacial predominantemente do tipo agregada em armadilhas atrativas amarelas (MARUYAMA et al., 2002; MARUYAMA et al., 2006; TOLEDO et al., 2006).

O psílídeo *T. erytrae*, mostrou distribuição ao acaso no início da colonização de um pomar de laranja recém-podado (para emitir novos ramos) na África do Sul; mais tarde, porém, a distribuição se apresentou agregada (SAMWAYS; MANICON, 1983). Este inseto também é dependente de fluxos vegetativos para seu desenvolvimento.

Em vários pomares de pomelo (*C. paradisi*) e de laranja (*C. sinensis*), a distribuição de ninfas e adultos de *D. citri*, se mostrou agregada no período de maiores densidades, entre março e agosto de 2006, nos EUA (SÉTAMOU et al., 2008).

2.1.3 Inimigos naturais de *D. citri*

Apesar de sua presença no Brasil há mais de seis décadas, muito pouco foi estudado sobre os inimigos naturais de *D. citri* em citros no país (AUBERT, 1987a; PAIVA, 1996). Esses levantamentos, de parasitóides e predadores, tiveram limitada abrangência temporal e geográfica.

Existem relatos na literatura internacional de fungos entomopatogênicos, predadores e parasitóides causando significativa mortalidade em *D. citri*. Epizootias de fungos em ninfas de *D. citri* ocorreram comumente em ambientes com umidade relativa do ar, próxima à saturação, nas Ilhas Reunión (AUBERT, 1987b). O fungo *Hirsutella citriformis* Speare foi encontrado em 5 de 35 amostras infectando ninfas e adultos de *D.*

citri em Guadalupe. Em períodos de precipitações pluviais constantes, mais de 80% dos insetos foram atacados por este entomopatógeno (ÉTIENNE et al., 2001).

Um novo isolado de *H. citriformis* foi encontrado recentemente em adultos deste psíldeo nos EUA (MEYER et al., 2007a). Esta espécie e também *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) foram isolados de adultos de *D. citri* na Indonésia. Um dos isolados de *P. fumosoroseus* apresentou mortalidade, em *D. citri*, de até 50%, na concentração de 10^8 conídios/ml, em condições controladas (SUBANDIYAH et al., 2000a).

Predadores de *D. citri*, na China, incluem os seguintes artrópodes: coccinelídeos, crisopídeos, mantódeos, formigas, aranhas e até ácaros (YANG et al., 2006).

Nos EUA, foram considerados predadores chaves de ninfas deste psíldeo, as seguintes espécies de Coccinellidae: *Harmonia axyridis* Pallas, *Olla v-nigrum* Mulsant, *Cycloneda sanguinea* L. e *Exochomus childreni* Mulsant (MICHAUD, 2004). Após a introdução de *D. citri* na Flórida, em 1998, houve aumento das densidades do coccinelídeo *O. v-nigrum*, em resposta funcional ao aumento da disponibilidade de presas (MICHAUD, 2001).

Em laboratório, larvas dos coccinelídeos *Curinus coeruleus* Mulsant, *H. axyridis*, *O. v-nigrum*, *C. sanguinea* e *E. childreni* se desenvolveram adequadamente em ninfas de *D. citri*, porém houve aumento do período ninfal dos predadores e menor peso dos adultos alimentados exclusivamente com este psíldeo, quando comparado a um alimento de melhor qualidade (MICHAUD; OLSEN, 2004).

Em condições naturais, a sobrevivência das fases jovens de *D. citri* foi menor do que 10%, pois a maioria das ninfas foi predada, especialmente por coccinelídeos (STANSLY; QURESHI, 2008).

Em Porto Rico, cinco espécies de coccinelídeos, foram observadas associadas a ramos infestados com *D. citri*. Tais predadores consumiram ninfas deste inseto em laboratório e foram considerados importantes ao controle biológico natural do inseto vetor naquele país (PLUKE et al., 2005).

No Brasil, até 2004, não houve relato de parasitóides associados a ninfas de *D. citri* (AUBERT, 1987a; PAIVA, 1996). Porém, amostras de ninfas coletadas, no período de setembro de 2004 a agosto de 2005, em diversos locais de produção de citros do

estado de São Paulo, mostraram a presença do ectoparasitóide *Tamarixia radiata* (Waterston) (GÓMEZ-TORRES et al., 2006).

Estudos de laboratório já tinham mostrado que populações de *D. citri* brasileiras eram suscetíveis ao parasitismo por *T. radiata* e que este parasitóide deveria ser introduzido no país, mesmo que na ausência do HLB (naquela época) (AUBERT, 1987a).

O ectoparasitóide *T. radiata* se desenvolve como um idiobionte em estágios imaturos de *D. citri*. A fêmea deposita o ovo na parte ventral de ninfas de terceiro ao quinto ínstar e a larva do parasitóide se alimenta da hemolinfa do hospedeiro. A pupação ocorre na parte de baixo do psíldeo mumificado. O adulto então emerge através de um furo no tórax da ninfa morta (ÉTIENNE et al., 2001).

São conhecidas duas espécies de parasitóides de *D. citri*, consideradas primárias: *T. radiata* e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam e Agarwal) e quatro espécies que são consideradas secundárias: *Psyllaephagus diaphorinae* Lin e Tao, *Syrphophagus taiwanus* Hayat e Lin, *Syrphophagus diaphorinae* Myartseva e Tryapitsyn, *Diaphorencyrtus diaphorinae* Lin e Tao e que podem, como hiperparasitóides, reduzir a ação dos parasitóides primários (HALBERT; MANJUNATH, 2004).

Um complexo de 15 espécies de parasitóides foi encontrado associado a ninfas do psíldeo africano *T. erytrae* no Zimbábue, sendo apenas duas consideradas primárias, o ectoparasitóide *Tetrastychus* (?) *radiatus* e o endoparasitóide *Psyllaephagus pulvinatus* (Waterston) (McDANIEL; MORAN, 1972). O principal hiperparasitóide de ambos foi *Aphidencyrtus cassatus* Annecke. Os autores discutiram a biologia e a interação das principais espécies.

Casos de sucesso no controle biológico clássico de *D. citri* com *T. radiata* foram relatados nas Ilhas Reunião (AUBERT, 1987b) e em Guadalupe (ÉTIENNE et al. 2001), porém em outras regiões, como Taiwan, Filipinas, Nepal e Indonésia não houve controle eficiente do psíldeo com este parasitóide (DA GRAÇA, 1991). Em regiões com presença de hiperparasitóides, o controle biológico de *D. citri* por *T. radiata* é muito prejudicado e parece não ser possível (AUBERT, 1987b).

Em Taiwan, após a introdução de *T. radiata*, houve redução do parasitismo de *D. citri* causado pela espécie nativa *D. diaphorinae*. Neste local, são conhecidas dez

espécies de himenópteros hiperparasitóides que reduziram a ação de ambos os parasitóides, o introduzido e o nativo (CHIEN et al., 1989).

Em 1998, os parasitóides *T. radiata* e *D. aligarhensis* foram introduzidos nos EUA para o controle de *D. citri*, assim que o último foi constatado naquele país (HOY; NGUYEN, 2001). Sob condições controladas, *T. radiata* causou maior mortalidade de ninfas por se alimentar do hospedeiro (57%) do que pelo parasitismo (36%), sendo que o restante (7%) das ninfas sobreviveu (SKELLEY; HOY, 2004). A primeira espécie se estabeleceu no estado da Flórida, porém as taxas de parasitismo de ninfas, observadas em condições naturais, foram baixas, 1,3; 0,2 e 1,0%, em três áreas estudadas (MICHAUD, 2004). Este autor atribuiu, em parte, a baixa eficiência deste parasitóide à mortalidade de ninfas parasitadas causadas por insetos predadores. Apesar de estabelecido em todas as regiões produtoras de citros daquela localidade, *T. radiata*, geralmente, contribui com uma pequena parcela da mortalidade de *D. citri* (STANSLY; QURESHI, 2008).

No Brasil, as primeiras avaliações de parasitismo de *D. citri*, após a introdução do HLB no país, feitas com amostras de várias localidades de São Paulo, no período de setembro de 2004 a agosto de 2005, mostraram altas taxas de parasitismo. A mortalidade causada por *T. radiata* variou de 27.5 a 80.0% das ninfas amostradas (GÓMEZ-TORRES et al., 2006). Experimentos preliminares sobre a eficiência de *T. radiata* em liberações mostraram taxas de parasitismo promissoras. Após uma semana da liberação deste parasitóide, 51,5 e 72,7% de ninfas de *D. citri* foram parasitadas (PARRA et al., 2007).

2.1.4 Tabela de vida ecológica e bioecologia de *D. citri*

Tabelas de vida ecológicas são um dos mais importantes métodos para o estudo da dinâmica populacional de insetos. Essas tabelas registram as mudanças populacionais de uma espécie em seu ambiente natural. São obtidas em campo, por meio de estimativas das densidades de cada fase do inseto por gerações sucessivas (HARCOURT, 1969; SILVEIRA NETO et al., 1976).

Entre suas vantagens, é que, por meio dela, pode-se quantificar a mortalidade das diferentes fases e identificar suas causas. Pode-se determinar os fatores-chaves de mortalidade, responsáveis por boa parte das mudanças nas densidades populacionais, ao longo das gerações, e também as fases que tiveram as maiores mortalidades (VARLEY; GRADWELL, 1960).

Tabelas de vida ecológicas podem ter objetivos específicos, como determinar o papel ecológico que inimigos naturais exercem em um dado agroecossistema. A contribuição da mortalidade causada pelo inimigo natural pode ser quantificada separadamente das outras fontes de mortalidade (BELLOWS et al., 1992).

Em condições de campo, poucos são os estudos de tabela de vida com psílídeos. Para *T. erythrae*, os principais fatores de mortalidade foram: déficits de pressão de vapor, o ritmo de emissão de novos ramos em citros e os inimigos naturais, sendo que as duas fases mais suscetíveis à mortalidade foram ovos e ninfas pequenas (VAN DEN BERG, 1990).

Com *D. citri*, tabelas de vida, em condições controladas, foram construídas com parâmetros biológicos deste inseto em diferentes temperaturas e em diferentes plantas hospedeiras (LIU; TSAI, 2000; TSAI; LIU, 2000; NAKATA, 2006; NAVA et al., 2007).

O período de incubação variou com a temperatura. Com uma população de *D. citri* dos EUA este período foi de 9,7 dias a 15°C e de 3,5 dias a 28°C (LIU; TSAI, 2000). No Japão, na menor temperatura, 15°C, o período de incubação foi maior, 15 dias, enquanto que na maior temperatura, 32,5°C, a duração foi de 2,5 dias (NAKATA, 2006). Menores períodos de incubação, na menor temperatura, foram observados no Brasil, por Nava et al. (2007), ou seja, 7,7 dias a 18°C. A 32°C, o período médio de incubação foi de 2,6 dias, segundo estes autores.

As temperaturas constantes de 10 e 33°C não permitiram que o inseto se desenvolvesse em *M. paniculata* (LIU; TSAI, 2000). Mortalidades de ninfas, acima de 80%, foram verificadas em temperaturas de 32°C (NAKATA, 2006; NAVA et al., 2007).

A menor temperatura, de 15°C, estudada por Nakata (2006), causou mortalidade total das ninfas de quinto ínstar da população japonesa de *D. citri* em *M. paniculata*. Por outro lado, com insetos, coletados no sul dos EUA, a viabilidade ninfal foi de mais de 80% na mesma condição térmica e na mesma espécie hospedeira (LIU; TSAI, 2000).

As exigências térmicas, do período de ovo até adulto, foram estimadas para as três populações (Brasil, EUA e Japão) em 250, 211 e 232 graus-dia, em *M. paniculata*, *Citrus limonia* Osbeck e *M. paniculata*, respectivamente. Os limites térmicos inferiores (temperaturas bases) variaram de 10,5 a 13,5°C (LIU; TSAI, 2000; NAKATA, 2006; NAVA et al., 2007). O hospedeiro pode ter tido influência sobre a duração do ciclo, bem como a origem da população estudada. No entanto, os valores obtidos foram muito semelhantes.

A temperatura afetou a fecundidade e a longevidade de fêmeas de *D. citri* em *M. paniculata*. As maiores fecundidades se deram a 25 e 28°C, com mais de 600 ovos produzidos, em média, por fêmea (LIU; TSAI, 2000). Por outro lado, as maiores longevidades foram observadas nas menores temperaturas e variaram de 88 dias, a 15°C, a 29 dias, a 33°C (LIU; TSAI, 2000). Não só a temperatura afetou a fertilidade das fêmeas, mas a planta hospedeira. Em *C. paradisi* houve a oviposição de mais de 800 ovos por fêmea, enquanto nos outros três hospedeiros, *Citrus jambhiri* Lush, *Citrus aurantium* L. e *M. paniculata*, as posturas médias foram significativamente menores e ficaram em torno de 600 ovos (TSAI; LIU, 2000). Segundo esta última pesquisa, a planta hospedeira não afetou a duração do período ovo-adulto, afetando, contudo, a viabilidade.

Em pesquisa realizada no Brasil, as maiores oviposições ocorreram em *M. paniculata*, com cerca de 350 ovos por fêmea e as menores em *Citrus sunki* hort. ex Tanaka, com 166 ovos em média por fêmea (NAVA et al., 2007). Portanto, a fertilidade observada por Tsai e Liu (2000) em *M. paniculata*, de 626 ovos em média por fêmea, foi bem maior do que a observada por Nava et al. (2007), de 348 ovos, sugerindo que a origem das populações levou a tais diferenças. Os últimos autores constataram um período de pré-oviposição de cerca de 10 dias, independente da planta hospedeira. Por outro lado, Wenninger e Hall (2007) apontam um período de pré-oviposição de apenas um dia.

Sem alimento e água, adultos de *D. citri* sobreviveram por mais tempo em umidades relativas do ar maiores. Em ambiente com 97% de umidade relativa do ar, o tempo letal para 50% dos indivíduos foi de 43 horas a 25°C e 32 horas a 30°C. Por outro lado, em ambiente seco, 7% de umidade relativa do ar, o TL 50 foi de 25 horas a 25°C e 12 horas a 30°C (MCFARLAND; HOY, 2001).

Aspectos da biologia de insetos são influenciados pela origem da população, fatores abióticos e presença de simbiontes, entre outros. Estudos recentes mostraram a presença de bactérias endossimbiontes em populações de *D. citri* (JEYAPRAKASH; HOY, 2000; SUBANDIYAH et al., 2000b; WERNEGREN, 2002), sem que, no entanto tenha se avaliado o papel biológico de cada um destes microorganismos.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Distribuição temporal de *Diaphorina citri* em pomares de laranja (*Citrus sinensis*)

Foram selecionados pomares de laranja, *C. sinensis*, em seis diferentes regiões do estado de São Paulo para a realização dos experimentos de distribuição temporal do psilídeo, *D. citri* (Tabela 1).

Tabela 1 - Características dos pomares de laranjas (*Citrus sinensis*), área, época de realização e número de amostragens dos experimentos de distribuição temporal de *Diaphorina citri*.

Área	características dos pomares de laranja			fase experimental		
	cultivar copa	cultivar porta-enxerto	ano do plantio	início	fim	número de amostragens
Araras	Pêra	limão cravo	2000	jan/05	jul/07	69
Bauru	Hamilin	limão cravo	1999	jun/04	jun/07	63
Botucatu	Pêra	limão cravo	2005	set/05	jun/07	41
Casa Branca	Pêra	limão cravo	1995	ago/04	jun/07	60
Casa Branca	Valência	tangerina cleópatra	1996	ago/04	jun/07	60
Lins	Valência	limão cravo	1998	jul/04	out/06	53
São Carlos	Valência	limão cravo	2002	jul/04	mai/07	51

Em cada local foi selecionado um talhão de cinco a sete hectares, compreendendo de duas a quatro mil árvores. Em cada amostragem, foram tomadas aleatoriamente vinte árvores por talhão, nas quais se observaram três ramos em crescimento, tomados ao acaso, ramos estes posicionados a uma altura de um a dois metros do nível do solo. Na ausência de ramos em crescimento, com folhas novas, a amostragem foi feita em ramos maduros. Houve aplicação de acaricidas, fungicidas e inseticidas nas áreas experimentais segundo critérios do citricultor.

Obteve-se, em cada amostragem, a estimativa da proporção de ramos com presença de ninfas vivas e a proporção de ramos com presença de adultos vivos de *D. citri*, nos sessenta ramos amostrados. O intervalo médio entre as amostragens variou entre quatorze e vinte dias, com média de dezessete dias. A fase de ovo não foi considerada, na maioria das áreas, pois é curta, em torno de quatro dias a 25°C (LIU; TSAI, 2000; NAVA et al., 2007) e geralmente quando havia ovos no ramo, já existiam ninfas eclodidas.

As proporções de ramos infestados com *D. citri* foram comparadas entre as regiões pelos intervalos de confiança das médias das diferentes amostragens realizadas. As análises estatísticas foram feitas no software SAS (2000), com nível de significância de 0.05.

2.2.2 Distribuição espacial de *D.citri* em pomares de laranja (*C. sinensis*)

Foram selecionados pomares com infestação de *D. citri* em diferentes áreas do estado de São Paulo (Tabela 2). Em cada área, amostrou-se uma única vez, um número variado de árvores, de 80 a 2234 plantas e três ramos em crescimento, em cada uma delas. As árvores e os ramos foram tomados aleatoriamente. O número de ninfas e o de adultos vivos, encontrado em cada ramo, foi anotado. A unidade amostral foi o ramo com haste única.

Tabela 2 - Características dos pomares de laranja (*Citrus sinensis*), área, época de realização e amostra dos experimentos de distribuição espacial do psílídeo *Diaphorina citri*.

Área	características dos pomares de laranja			fase experimental	
	cultivar copa	cultivar porta-enxerto	ano do plantio	época	tamanho da amostra (n)
Bauru	Pêra	limão cravo	2005	dez/07	720
Botucatu	Pêra	limão cravo	1995	fev/07	240
Franca	Pêra	tangerina sunki	2005	nov/07	300
Franca 2	Pêra	limão cravo	2005	abr/08	360
Lins	Valência	limão cravo	1998	dez/07	300
São Carlos	Hamilin	limão cravo	1999	jan/07	6702
São Carlos 2	Hamilin	limão cravo	1999	abr/07	480

Com os dados, foram obtidas médias e variâncias de ninfas e adultos de *D. citri* em cada população, bem como as razões entre variância e média, o coeficiente de potência da lei de Taylor e o índice de Morisita, estatísticas que possibilitam inferir sobre a distribuição espacial do inseto (KUNO, 1991).

O coeficiente b da lei de potência de Taylor, característico da espécie do inseto, é estimado entre a relação das estimativas das médias e variâncias. Matematicamente, é obtido pelo valor de b da equação exponencial com as médias como variáveis independentes e as variâncias como variáveis dependentes, ou o valor de b da equação da reta, quando se relacionam os logaritmos de médias e variâncias. O inseto tem distribuição espacial do tipo uniforme se o valor de b for menor que um, aleatória, ou ao acaso, se b for igual a um e agregada se o valor for maior que um (TAYLOR, 1961).

Também o índice de Morisita (I_m), obtido com a fórmula a seguir, indica o padrão de dispersão dos indivíduos em uma população de insetos na área amostrada. Índice de Morisita igual a um indica distribuição do tipo aleatória e índice maior que um, distribuição do tipo agregada (MORISITA, 1962).

O índice de Morisita é expresso pela fórmula:

$$I_m = n \left(\sum x^2 - \sum x \right) / \left(\left(\sum x \right)^2 - \sum x \right),$$

onde, n = tamanho da amostra e x = valores das densidades de *D. citri*.

Em pomar na região de São Carlos, em janeiro de 2007, ninfas e adultos do psíldeo foram quantificados em 2234 árvores, tomando-se três ramos de cada uma. Foram feitas 26 amostragens na mesma área, no mesmo dia. Os índices de Taylor foram determinados como descrito anteriormente. As regressões lineares entre as médias e variâncias de cada amostragem foram submetidas à análise das variâncias pelo teste F (0,05).

Foi usado o teste t de Student para verificar se as razões entre variância e média, índices de Morisita e coeficientes de Taylor diferiam estatisticamente de um, com nível de significância de 0,05.

Com os dados da densidade de ninfas e adultos, apenas de ramos infestados, observadas nos experimentos de distribuição espacial, construíram-se histogramas.

2.2.3 Levantamento de inimigos naturais de *D. citri* em pomares de laranja (*C. sinensis*)

As observações de inimigos naturais associados a *D. citri* constaram do exame visual de ramos em crescimento com ovos, ninfas e adultos em campo. Foi anotado o número de indivíduos do psílídeo nestes ramos, bem como a presença e o número de outros insetos como afídeos, minadora das folhas, moscas-brancas, coccinelídeos, crisopídeos e sirfídeos. As observações tiveram duração de uma a três horas em cada campo.

Para quantificação do parasitismo por *Tamarixia radiata*, coletaram-se ramos com ninfas grandes de *D. citri*, de quarto e quinto ínstaes. Foram contadas as ninfas não parasitadas e as ninfas parasitadas (mumificadas). A taxa de parasitismo foi obtida pela relação entre ninfas parasitadas e ninfas totais (não parasitadas + parasitadas).

As taxas de parasitismo foram comparadas pela análise das variâncias (teste F) com os dados transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$, com significância de 0,05. Quando a comparação era feita entre três ou mais tratamentos e havia diferença significativa pelo teste F ($p < 0,05$), aplicava-se o teste t de Student para identificar os tratamentos estatisticamente diferentes ao mesmo nível de significância.

2.2.4 Tabela de vida ecológica de *D. citri* em pomares de laranja (*C. sinensis*)

O primeiro experimento foi conduzido em pomar de laranja cultivar Valência, em porta-enxerto de limão-cravo *Citrus limonia* Osbeck, plantado em fevereiro de 2002, no município de Araras (SP). As avaliações de campo foram feitas no período de novembro a dezembro de 2006, por uma geração do inseto. Os dados climáticos diários foram obtidos em termo-higrômetro e pluviômetro, instalados na área experimental, com leituras diárias (temperatura, umidade relativa do ar e precipitações pluviais).

O segundo experimento foi feito também em pomar de laranja cv. Valência, em porta-enxerto de citrumelo Swingle (*Citrus paradisi* Macfad x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), plantado em março de 2005, em Piracicaba (SP). Este ensaio foi conduzido de fevereiro a maio de 2007, por três gerações do inseto. Foram usados os dados climatológicos da

estação meteorológica da ESALQ-USP, com exceção das precipitações pluviais medidas em pluviômetro no local do experimento.

Foram selecionadas árvores com gemas recém brotadas ou ramos em início de crescimento com presença de ovos de *D. citri*. Cada uma dessas gemas ou ramos foi identificada com uma linha branca fina (de costura) e etiqueta numerada com lápis. Os ovos foram então contados com o auxílio de uma lente de aumento (10X). Em cada experimento foi marcado um número de ramos, que variou de 58 a 80, com pelo menos 400 ovos de *D. citri* no total.

As contagens ocorreram, para as fases imaturas do inseto, com intervalo de dois a quatro dias, determinando-se o número de indivíduos vivos em cada ramo e a sua respectiva fase. A fase de ninfa foi subdividida em ninfa pequena, para os primeiros ínstaes (primeiro, segundo e terceiro ínstaes) e ninfa grande, para os últimos ínstaes (quarto e quinto ínstaes).

A partir de observações prévias feitas para se testar a hipótese da movimentação de ninfas de um ramo para outro, constatou-se que em todos os ramos marcados (n=45) as ninfas permaneceram nos ramos onde eclodiram.

Nos ramos com ninfas grandes foram colocadas gaiolas, confeccionadas de tecido de malha fina de 30x50 cm, e amarradas, para quantificação dos adultos emergidos. Os insetos adultos emergidos foram coletados com auxílio de um succionador de boca e verificados quanto ao sexo com lente de aumento (10X), baseando-se na presença de ovipositor nas fêmeas.

Os ramos, após a emergência dos adultos, foram medidos com uma régua e as folhas foram contadas, para estudo do efeito do tamanho final do ramo na sobrevivência de ovos e ninfas de *D. citri*.

Em laboratório, em câmara climatizada, avaliou-se a viabilidade de ovos de *D. citri*, coletados no pomar de laranja de Piracicaba. Foram coletados 18 ramos com posturas, em abril de 2007. Os ovos (n= 146) de cada ramo foram contados em microscópio estereoscópico e os ramos dispostos, individualmente, em placas de Petri plásticas revestidas com papel de filtro. A temperatura foi mantida a $30\pm1^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14 horas e as umidades relativas do ar variaram de 35 a 45%. As ninfas eclodidas

foram contadas, 24 e 72 horas após o início do experimento, em microscópio estereoscópico.

Para construção das tabelas de vida de idade específica em campo (ecológica), foram usados os modelos propostos por Harcourt (1969), Silveira Neto et al. (1976) e Southwood (1978). O número de insetos mortos (dx) no estágio foi obtido pela diferença entre o número de insetos vivos no estágio (lx_1) e o número de insetos vivos que passaram para o estágio seguinte (lx_2) (KOBAYASHI, 1968). A taxa de mortalidade foi obtida pela relação entre insetos mortos e vivos no mesmo estágio (dx/lx) e a taxa de sobrevivência por diferença ($1 - \text{taxa de mortalidade}$).

As taxas de parasitismo foram obtidas pela relação entre ninfas parasitadas e ninfas totais (vivas+parasitadas). A razão sexual foi obtida pela relação entre fêmeas e o total de adultos emergidos (fêmeas + machos).

Foram feitas análises das variâncias das regressões lineares para comprimento final dos ramos (variável independente) e viabilidade de ovo-adulto de *D. citri* (dependente) e também para densidade de ninfas pequenas e respectiva viabilidade (dependente). Foi feita análise das variâncias pela aplicação do teste F para densidade de ovos por ramo, nas quatro gerações estudadas do inseto (uma de Araras e três de Piracicaba), com dados transformados em $x^{1/2}$. Os dados de viabilidade de ovo a adulto foram transformados em $\arcsen (x/100)^{1/2}$ e submetidos à análise das variâncias pelo teste F. As análises estatísticas foram feitas com auxílio do software SAS (2000), com nível de significância de 0,05.

Os valores observados em campo para duração de ovo a adulto, nas quatro gerações estudadas, foram comparados com os valores esperados obtidos de modelos matemáticos de exigências térmicas propostos por Liu e Tsai (2000), Nakata (2006) e Nava et al. (2007) pelo teste do qui-quadrado (0,05). Para estimativa dos valores esperados em cada modelo foi considerada a temperatura média do mesmo período no campo.

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Distribuição temporal de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em pomares de laranja (*Citrus sinensis*)

As ocorrências de ramos de *C. sinensis* com ninfas e adultos do psílideo *D. citri*, ao longo dos experimentos, foram diferentes entre as regiões estudadas. O inseto esteve predominantemente associado à presença de ramos em crescimento (novos) nas laranjeiras.

Considerando-se as estimativas das proporções de ramos com presença do inseto, as menores infestações foram verificadas nas áreas de Araras e Casa Branca e as maiores infestações em Lins e São Carlos. Apesar do período de amostragens, entre as áreas estudadas, não ser exatamente o mesmo, comparou-se a proporção de amostras com presença de ninfas e adultos de *D. citri* em relação ao total de amostragens realizadas em cada experimento. Na área de Lins, 49,0% e 45,3% das amostragens apontaram presença de ninfas e adultos, respectivamente, 26,4% e 45,3% em São Carlos, 31,7% e 36,5% em Bauru, 19,5% e 29,3% em Botucatu, 10,1% e 14,5% em Araras e 10,0% e 3,3% em Casa Branca (cultivar Pêra).

Houve grandes variações entre as proporções de ramos infestados (Figuras de 1 a 7). As escalas no eixo das ordenadas são diferentes, variando de zero até as proporções máximas observadas em cada área experimental.

Em Araras (Figura 1), houve ocorrências de adultos (junho e agosto de 2005, março de 2006), sem que a fase imatura fosse constatada, assim como ninfas foram observadas em duas amostragens com ausência de adultos (fevereiro de 2005 e setembro de 2006). Porém, em duas amostragens, as duas fases do inseto foram observadas na mesma data (novembro de 2005 e maio de 2007).

Figura 1 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* com ninfas e adultos de *Diaphorina citri* na área de Araras, SP, no período de janeiro de 2005 a julho de 2007

A ocorrência de *D. citri*, alternada com a ausência deste inseto, sugere que as árvores produzam novos ramos em determinadas ocasiões e em outras não, motivando os insetos adultos a se movimentarem para árvores com disponibilidade de ramos em crescimento, para sua alimentação e oviposição. Assim, a dispersão deste inseto estaria em boa parte condicionada à presença e ausência de ramos em crescimento.

Infestações coincidentes de ninfas e adultos de *D. citri* foram verificadas na área de Bauru na maioria das amostragens (Figura 2), podendo as ninfas serem progênie destes adultos. Em duas delas, no início de 2005, as proporções de ramos com ninfas foram maiores que a de ramos com adultos, sem explicação aparente.

Figura 2 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* com ninfas e adultos de *Diaphorina citri* na área de Bauru, SP, no período de junho de 2004 a junho de 2007

Em Botucatu, as maiores infestações foram verificadas no segundo ano do levantamento (Figura 3). *D. citri* esteve presente em todas as amostragens no período de outubro de 2006 a maio de 2007. Predominaram os ramos em crescimento com adultos em relação aos ramos com ninfas. Neste caso, admitindo condições climáticas semelhantes entre os dois anos do estudo, pode-se supor que o crescimento das árvores tenha influenciado na população ou na dispersão de *D. citri*, já que as árvores cresceram e ofereceram mais ramos novos aos insetos. O pomar tinha menos de um ano de idade no início do experimento.

Uma ocorrência única de ramos com adultos de *D. citri* em junho de 2006, mostra que este inseto esteve presente em pomar na região sul do estado de São Paulo, mesmo no inverno. A condição necessária e suficiente para infestação foi a presença de ramos em crescimento, que também foram emitidos pelas árvores no período de poucas precipitações pluviais e temperaturas menores.

Figura 3 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* com ninfas e adultos de *Diaphorina citri* na área de Botucatu, SP, no período de setembro de 2005 a junho de 2007

Em Casa Branca, as infestações de *D. citri* só foram observadas no início dos experimentos, em outubro e dezembro de 2004 (Figuras 4 e 5). O inseto voltou a ser observado apenas em abril de 2007, no talhão da cultivar Pêra (Figura 5). As populações podem ter sido controladas pela aplicação de inseticidas. No entanto, as infestações entre as cultivares Pêra e Valência foram muito semelhantes, sugerindo, neste caso, que o efeito climático da região e mesmo o de práticas culturais pode ser mais importante do que o efeito das cultivares copa de *C. sinensis*. Ou mesmo, que não haja diferenças entre as cultivares Pêra e Valência para a ocorrência de *D. citri*.

Figura 4 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* cultivar Valência com ninfas, adultos e ovos de *Diaphorina citri* na área de Casa Branca, SP, no período de agosto de 2004 a junho de 2007

A infestação de ninfas, em 15% dos ramos, em setembro de 2004, não resultou em infestações nos meses seguintes (Figura 4). Pode-se supor que os insetos morreram, por diversos motivos, incluindo-se inseticidas, efeito do clima, do hospedeiro ou se tornaram adultos e dispersaram para outras áreas. A ocorrência de ovos coincidiu com a presença da fase adulta em novembro de 2004.

A proporção de ramos com ovos foi semelhante à de ninfas em setembro de 2004 (Figura 5). Em seguida, houve um pico de ninfas sem que a ocorrência de ovos fosse constatada, provavelmente pela diferença entre a duração desta fase, de 4 a 5 dias, e o intervalo entre as amostragens, 15 a 20 dias. Assim, para amostragem de ovos de *D. citri* em citros, o intervalo entre amostragens deve ser menor que 15 dias e iniciado tão logo se constate a presença de gemas iniciando a brotação.

Figura 5 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* cultivar Pêra com adultos, ninfas e ovos de *Diaphorina citri* na área de Casa Branca, SP, no período de agosto de 2004 a junho de 2007

Na área de Lins, as maiores infestações foram observadas nas amostragens do período de setembro de 2004 a fevereiro de 2005, as quais diminuíram drasticamente nas amostragens seguintes (Figura 6). Novas ocorrências do inseto foram verificadas de agosto de 2005 a março de 2006, na primavera e verão.

São muitos os fatores que podem determinar o tamanho e a dispersão da população de *D. citri* em uma área. Supondo que as condições climáticas e a abundância

de ramos em crescimento foram semelhantes nos três anos da pesquisa, pode ter sido importante, para a redução do inseto, o controle químico adotado após a constatação do HLB (COLETTA-FILHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005), não só nas áreas experimentais, como na maioria dos pomares comerciais de citros do estado de São Paulo.

Figura 6 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* com ninfas e adultos de *Diaphorina citri* na área de Lins, SP, no período de julho de 2004 a outubro de 2006

Um padrão semelhante de distribuição temporal ao observado em Lins foi constatado na área de São Carlos (Figura 7). As maiores infestações ocorreram de dezembro de 2004 a abril de 2005 e menores infestações entre outubro de 2005 a janeiro de 2006. Altas infestações de ninfas, como as registradas em março de 2005, com ausência de adultos nas amostragens seguintes, sugerem que pode haver alta mortalidade de ninfas ou que os adultos emergidos se movimentaram para outras plantas hospedeiras, já que pode haver ausência temporária de ramos novos nas plantas de um pomar.

Figura 7 - Distribuição temporal de ramos em crescimento de *Citrus sinensis* com ninfas e adultos de *Diaphorina citri* na área de São Carlos, SP, no período de julho de 2004 a maio de 2007

Usando um método de amostragem diferente, por meio de sugador mecânico, Yamamoto et al. (2001) constataram picos populacionais de adultos de *D. citri* no final da primavera e início do verão, nos meses de novembro, dezembro e janeiro. Em três das áreas experimentais do presente trabalho, Casa Branca, Lins e São Carlos, as maiores proporções de ramos em crescimento com *D. citri* foram observadas também neste período do ano ou em meses próximos a estes.

Figura 8 - Médias e intervalos de confiança (0.95) das infestações de ninfas de *Diaphorina citri* em diferentes áreas de São Paulo entre 2004 e 2007

Figura 9 - Médias e intervalos de confiança (0.95) das infestações de adultos de *Diaphorina citri* em diferentes áreas de São Paulo entre 2004 e 2007

Considerando-se todas as estimativas das proporções de ramos infestados com ninfas e adultos, houve diferença entre as áreas estudadas. A infestação média de ninfas observada em São Carlos foi de 9,15% (4,88-13,42), maior do que as infestações nas demais áreas (Figura 8). As infestações de ninfas em Bauru 2,91% (1,42-4,40), Botucatu 1,30% (0,36-2,24) e Lins 2,30% (0,92-3,67) não diferiram entre elas, comparando-se o intervalo de confiança das médias. Em Araras com média de 0,20% (0,05-0,34), Casa Branca (Valência) 0,25% (-0,24-0,74) e Casa Branca (Pêra) 0,72% (-0,05-1,50) foram verificadas as menores infestações de ninfas do psilídeo.

As estimativas das médias das infestações de ramos com adultos de *D. citri* em Bauru foram de 2,75% (1,46-4,04), em Botucatu de 1,91% (0,64-3,18), em Lins de 3,28% (1,50-5,06) e em São Carlos de 3,33% (1,30-5,36), valores estes que não diferiram entre si (Figura 9). Assim como observado para ninfas, as menores infestações de adultos também foram obtidas em Araras com 0,32% (0,12-0,51), Casa Branca (Valência) 0,03% (-0,03-0,08) e Casa Branca (Pêra) 0,06% (-0,02-0,13).

As maiores incidências de HLB tem sido observados no centro do estado de São Paulo, da qual se inclui a região de São Carlos, onde foram observadas as maiores densidades de ninfas no período estudado, apesar da maioria dos citricultores realizar controle químico. No entanto, ainda não se conhece o papel desta fase do inseto na transmissão e conseqüentemente na epidemiologia da doença.

Yamamoto et al. (2001) observaram também grande variação entre as distribuições temporais, considerando-se as densidades de adultos capturados por tempo de aspiração entre as dezesseis áreas estudadas. Os autores não mencionaram se houve aplicação de inseticidas nestas áreas, o que pode ter afetado a ocorrência e abundância do inseto.

Apesar de o inseto ter sido observado em maiores densidades na primavera e verão, todos os surtos vegetativos (ramos em crescimento) podem apresentar infestação de *D. citri*, mesmo naqueles que ocorrem no outono e inverno (YAMAMOTO, 2008).

Em plantas de murta (*M. paniculata*) e em vasos de murta e pomelo, sem aplicação de inseticidas, adultos de *D. citri*, foram encontrados em todas as amostragens no período de outubro de 1998 a julho de 2000 nos EUA (TSAI et al., 2002). Os autores encontraram correlações negativas entre temperatura mínima e precipitação pluvial semanal com a densidade do inseto.

Altas temperaturas e altas umidades relativas tiveram efeito negativo sobre as populações de *D. citri* na China (YANG et al., 2006).

Em condições controladas, temperaturas menores são mais favoráveis ao inseto do que temperaturas elevadas. A 32°C, ninfas de *D. citri* tiveram viabilidade de apenas 5,7% (NAVA et al., 2007). No entanto, a 30°C, populações de São Paulo e Flórida tiveram sobrevivências ao redor de 70% (LIU; TSAI, 2000; NAVA et al., 2007). Em temperaturas menores, de 15°C, *D. citri* apresentou viabilidade de ovo a adulto de 50% (LIU; TSAI, 2000) e a 18°C, de 67% (NAVA et al., 2007).

As precipitações pluviais podem ter efeito indireto sobre a população de *D. citri*, pelo estímulo às laranjeiras para emitirem ramos. No entanto, meses muito chuvosos, acima de 150 mm, podem desfavorecer o inseto e reduzir suas populações, pois ovos e ninfas podem ser lavados das folhas (AUBERT, 1987b). Já as sobrevivências de adultos, sem alimento, foram maiores nas maiores umidades relativas do ar, notadamente em combinação com temperatura de 25°C (MCFARLAND; HOY, 2001).

As proporções médias ($\pm$ erro-padrão da média) de ramos em crescimento infestados com ovos, ninfas e adultos de *D. citri*, observadas na presente pesquisa, nas condições de São Paulo, foram respectivamente $0,17 \pm 0,03$ (n=120); $2,40 \pm 0,69$ (n=396); $1,67 \pm 0,49$ (n=396); valores estes bem menores do que os observados por Hall et al.

(2008) em pomar de laranja na Flórida (EUA), ou seja, $49,9 \pm 3,4$; $59,6 \pm 2,8$; $11,0 \pm 1,2$; também para ovos, ninfas e adultos, respectivamente.

Para um inseto vetor de patógenos sistêmicos, que parece ter grande mobilidade entre plantas e entre talhões, pode ser mais adequada a estimativa da densidade de ramos ou plantas infestadas, que correm risco de infecção, do que propriamente a estimativa das densidades populacionais, como o número médio de insetos por ramo ou por planta.

As distribuições temporais de ninfas e adultos de *D. citri* nas seis áreas experimentais foram diferentes (Figuras 1 a 9). É provável que a presença e a abundância de ramos em crescimento nas laranjeiras seja o principal fator abiótico para ocorrência do inseto no pomar. No entanto, o clima, especialmente a temperatura, assim como a densidade de ramos novos, devem afetar o tamanho populacional.

2.3.2 Distribuição espacial de *D. citri* em ramos em crescimento de *C. sinensis* em São Paulo

Poder-se-iam analisar os dados de ninfas e adultos conjuntamente, já que representam a continuidade do ciclo do psíldeo, mas como os dados parecem sugerir que as distribuições não têm padrões semelhantes, as análises e as discussões foram feitas separadamente para cada fase.

As ninfas de *D. citri* apresentaram maiores densidades do que os adultos (Tabela 3). As densidades são baixas, na maioria das áreas, abaixo de um inseto por ramo, pois predominaram os ramos com ausência de insetos (Tabela 4). As variâncias observadas para os dados de ninfas foram, nas seis áreas, maiores do que as variâncias para adultos.

A razão entre variância e média próximo ou igual a um indica distribuição ao acaso, ou aleatória. Para *D. citri*, as razões para adultos e para ninfas, foram maiores do que um (ninfas, $t=5,48$, 5 g.l., $p=0,0028$; adultos, $t=4,67$, 5 g.l., $p=0,0055$), sugerindo que ambas as fases do inseto têm distribuição agregada. Comparativamente, poder-se-ia inferir que a fase jovem do inseto apresenta maior agregação do que a de adulto, pois as razões variância/média foram maiores para ninfas do que para adultos (Tabela 3).

Tabela 3 - Amostra, média, variância e razão variância/média para adultos e ninfas de *Diaphorina citri* em ramos em crescimento de laranjeiras (*Citrus sinensis*) em seis áreas de São Paulo, em 2007 e 2008

Área	amostra	média		variância		variância/média	
		adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas
Bauru	720	0,049	0,804	0,063	7,676	1,296	9,545
Botucatu	240	0,458	1,200	0,626	15,290	1,365	12,741
Franca	300	0,157	0,367	0,173	1,925	1,102	5,251
Franca 2	360	0,089	0,422	0,154	4,000	1,728	9,473
Lins	300	0,217	2,520	0,304	29,642	1,403	11,763
São Carlos 2	480	0,064	0,215	0,098	0,862	1,519	4,017

As densidades médias ($\pm$ erro-padrão da média) de adultos e ninfas por ramo, considerando todas as áreas deste estudo, com aplicação de inseticidas, foram de $0,17 \pm 0,025$ e $0,92 \pm 0,149$, respectivamente. Médias inferiores às verificadas por Hall et al. (2008), de 0,31 para adultos e 12,7 para ninfas, em áreas de citros dos EUA, porém sem aplicação de inseticidas.

Os valores do coeficiente de Taylor obtidos para ninfas do psíldeo *D. citri* nas seis populações diferiram de um ($t=3,61$; 5 g.l.; $p=0,0152$) e indicam que esta fase do inseto apresentou distribuição agregada. No entanto, para adultos, o conjunto de coeficientes de Taylor não diferiu de um ($t=0,16$; 5 g.l.; $p=0,8816$), indicando distribuição espacial do tipo aleatória (Tabela 4). O coeficiente de potência de Taylor representa um fator da espécie e independe da densidade do inseto (TAYLOR, 1961).

Tabela 4 - Amostra, proporção de ramos infestados, coeficiente de potência de Taylor e índice de Morisita para adultos e ninfas de *Diaphorina citri* em ramos em crescimento de laranjeiras (*Citrus sinensis*) em seis áreas de São Paulo, em 2007 e 2008

Área	amostra	% ramos infestados		coeficiente Taylor		índice Morisita	
		adultos	ninfas	adultos	ninfas	adultos	ninfas
Bauru	720	4,2	16,0	1,429	3,379	7,261	11,631
Botucatu	240	32,5	26,3	1,422	4,375	1,815	11,285
Franca	300	14,0	13,3	0,439	3,512	1,665	12,660
Franca 2	360	7,2	13,3	1,203	5,400	3,145	7,048
Lins	300	16,3	29,7	1,767	1,492	2,885	5,262
São Carlos 2	480	3,3	6,5	0,000	1,546	9,290	15,168

Porém, os índices de Morisita foram estatisticamente maiores que um para as duas fases de *D. citri* (ninfas, $t=6,33$; 5 g.l.; $p=0,0014$, adultos, $t=2,59$; 5 g.l.; $p=0,0490$), característica de populações com distribuições agregadas (Tabela 4).

As variâncias aumentaram com o aumento das densidades (médias) de ninfas ($F_{1,24}=420,6$; $p<0,0001$) e de adultos ($F_{1,24}=21,9$; $p<0,0001$) (Figuras 10 e 11).

Figura 10 - Linearização da lei de potência de Taylor ($s^2 = a.m^b$) para avaliação da distribuição espacial de adultos de *Diaphorina citri* em ramos em crescimento de laranjeira em São Carlos, em janeiro de 2007

Figura 11 - Linearização da lei de potência de Taylor ($s^2 = a.m^b$) para avaliação da distribuição espacial de ninfas de *Diaphorina citri* em ramos em crescimento de laranjeira em São Carlos, em janeiro de 2007

Assim, os valores da lei de potência de Taylor, de 3,83 para ninfas e de 1,53 para adultos, indicam que esta população de São Carlos teve distribuição agregada, em ambas as fases. Valores b de Taylor de 1,76 para ninfas e 1,33 para adultos de *D. citri*

foram verificados por Sétamou et al. (2008) em pomares de laranja no estado do Texas (EUA).

Os dados obtidos com as seis populações estudadas (Tabela 4), adotando-se as três análises matemáticas, quais sejam, relação entre variância e média, coeficiente de Taylor e índice de Morisita, permitiram constatar que as fases de ninfa e adulto de *D. citri* tiveram distribuições predominantemente agregadas nos pomares de laranja estudados.

Em *M. paniculata*, Tsai et al. (2000) encontraram um coeficiente b de Taylor para adultos de *D. citri* de 1,2971. Para a população de adultos de São Carlos em laranjeiras, obteve-se, neste trabalho, um valor de 1,5354. Considerando-se este e outros índices de dispersão, Tsai et al. (2000) concluíram que adultos de *D. citri* tiveram distribuição agregada em murta. Em laranjeiras, verificou-se no presente trabalho que tanto ninfas quanto adultos se distribuem agregadamente, com uma tendência de a fase imatura ser mais agregada do que a fase adulta.

Outros dois insetos adultos, cigarrinhas vetoras de patógenos de citros em São Paulo, *Dilobopterus costalimai* Young e *Oncometopia facialis* (Signoret) tiveram também distribuição agregada em pomares de laranja, quando a unidade amostral foi armadilha adesiva amarela (MARUYAMA et al., 2002; MARUYAMA et al., 2006).

Considerando-se apenas os ramos em crescimento com presença do psilídeo e agrupando-se as densidades observadas nas sete populações de *D. citri*, observou-se que predominaram os ramos novos com apenas um adulto (Figura 12). Em mais de 60% dos ramos em crescimento havia mais de uma ninfa por ramo.

Figura 12 - Proporção de ramos em crescimento de *C. sinensis* infestados com diferentes densidades de ninfas e adultos de *Diaphorina citri* nos experimentos de Bauru, Botucatu, Franca (2 locais), Lins, São Carlos (2 locais), em 2007 e 2008

Por outro lado, em mais de 80% dos ramos havia apenas um adulto de *D. citri*. Com método de avaliação visual de ramos, semelhante ao empregado neste trabalho, picos populacionais de até 6,5 insetos adultos em média por ramo foram observados em murta na Flórida (EUA) e 1,5 adultos em *C. paradisi* (TSAI et al., 2002).

Considerando-se apenas os coeficientes de Taylor, pode-se dizer que os adultos apresentam uma distribuição aleatória com um inseto por ramo. Este comportamento sugere que possa haver uma escolha de ramos para oviposição por parte das fêmeas fertilizadas que distribuem os ovos agregadamente, resultando em distribuição agregada para ninfas. Já os insetos adultos após a emergência se distribuem para mais ramos ocupando maior espaço, para alimentação (machos) e alimentação e oviposição (fêmeas).

As fêmeas poderiam escolher os ramos mais adequados nutricionalmente (pela alimentação) e assim decidir pela oviposição. A agregação de ninfas pode ser vantajosa para sobrevivência do inseto, se ramos com mais ninfas garantirem maior viabilidade desta fase. A distribuição equidistante das árvores em um pomar de laranja, pelo menos entre linhas de plantio, artificializa e torna homogêneo o ambiente para *D. citri*, o que teoricamente levaria a uma distribuição mais homogênea. No entanto, a emissão de novos ramos tem se mostrado aleatória e surge em qualquer árvore e em qualquer parte delas (HALL; ALBRIGO, 2007).

Os estudos de distribuição espaço-temporal de um inseto permitem o conhecimento inicial para o estabelecimento ou aprimoramento de planos de amostragem para estimativas populacionais ou de partes infestadas. Nenhum plano de amostragem é viável sem o conhecimento da distribuição espacial do inseto (TAYLOR 1984).

Adotou-se nos experimentos de distribuição temporal uma amostra fixa de 60 ramos, que demanda cerca de uma hora de trabalho de uma pessoa treinada. Amostras maiores permitiriam estimativas mais precisas, sendo, no entanto, mais demoradas e caras. Parece mais importante amostrar o inseto mais freqüentemente, com intervalos de 7 a 10 dias, considerando-se a possível alta mobilidade dos adultos, do que adotar amostras maiores.

2.3.3 Levantamento de inimigos naturais de *D. citri* em pomares de laranja (*C. sinensis*)

2.3.3.1 Predadores

Ocorreram simultaneamente, em ramos em crescimento, outros insetos fitófagos, além de *D. citri*, como os afídeos, *Toxoptera* spp. e *Aphis* spp., o minador-das-folhas, *Phyllocnistis citrella* Stainton, a cochonilha verde *Coccus* sp. e espécies de aleurodídeos.

Nos experimentos de observação de predadores procurou-se por artrópodes associados exclusivamente a *D. citri*, com evidências de predação. Foram encontrados três coccinélídeos nos ramos em crescimento com presença de ninfas de *D. citri*, ou seja, *C. sanguinea*, *H. axyridis* e *Scymnus* sp., além de larvas de sirfídeos e, eventualmente larvas de crisopídeos. No entanto, em todos os ramos com insetos predadores havia afídeos também presentes, sendo freqüente a observação da predação de afídeos.

Durante os levantamentos, apenas um inseto predador, foi observado se alimentando de uma ninfa (Araras, SP, novembro de 2006) e de um adulto de *D. citri* (Lins, SP, abril de 2007), o crisopídeo *Chrysoperla externa* (Hagen), uma associação, que pode ser considerada pouco freqüente nas condições dos experimentos e, portanto, para o estado de São Paulo como um todo.

Duas espécies de crisopídeos, *Ceraeochrysa* sp. e *Chrysoperla rufilabris* Burmeister, foram observados em colônias de *D. citri*, na Flórida (EUA), porém em baixas freqüências (MICHAUD, 2004). Nas condições dos pomares de laranja da Flórida (EUA), os principais insetos predadores de *D. citri* foram os coccinélídeos (MICHAUD, 2001; MICHAUD, 2004; MICHAUD; OLSEN, 2004).

Em levantamentos anteriores de inimigos naturais de *D. citri* no Brasil, Aubert (1987a) não mencionou a ocorrência de predadores, enquanto que Paiva (1996) citou a presença dos coccinélídeos *C. sanguinea*, *Olla* sp. e *Scymnus* sp. associados a colônias de ninfas de *D. citri* em pomares paulistas, sem no entanto observar se havia ou não predação.

A ausência de coccinelídeos, associados às ninfas de *D. citri* em São Paulo, ao contrário do que ocorre em pomares cítricos da Flórida, EUA, pode estar relacionada às diferenças entre as populações da presa e dos predadores envolvidos. Na Flórida, houve aumento das densidades do coccinelídeo *Olla v-nigrum* após a introdução de *D. citri* naquela localidade em 1998 (MICHAUD, 2001). Esta mesma espécie de coccinelídeo ocorre no Brasil predando outro psíldeo, *Psylla* sp. em sibipiruna (*Caesalpinia peltophoroides*) (KATO et al., 1999).

Outros coccinelídeos como *Cycloneda sanguinea* ocorreram nos pomares dos experimentos; no entanto, foram sempre observados em associação com afídeos, ao contrário do que ocorre nos EUA e em Porto Rico, onde ele foi citado como eficiente predador de ninfas de *D. citri* (MICHAUD, 2004; PLUKE et al., 2005).

D. citri ocorre em citros no Brasil há mais tempo do que nos EUA. No Brasil foi citado pela primeira vez na década de 1940 (COSTA LIMA, 1942), enquanto nos EUA foi encontrado pela primeira vez em 1998 (KNAPP et al., 1998). Além das possíveis diferenças genotípicas e fenotípicas entre as populações do psíldeo e dos predadores, a recente associação entre ninfas de *D. citri* nos EUA, com vários coccinelídeos, sendo que a maioria deles foi considerada chave para controle biológico (MICHAUD, 2004), pode ser devida a outras causas. As prováveis causas da não predação de *D. citri* por coccinelídeos em São Paulo poderiam ser investigadas.

2.3.3.2 Fungos

Em maio de 2007 foi encontrada, em Araras (SP), uma ninfa de *D. citri* morta e com presença de fungos. O inseto foi levado ao Laboratório de Patologia de Insetos, do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ-USP, onde ficou incubado em meio de cultura específico. O fungo foi identificado como pertencente ao gênero *Cladosporium*, oportunista, de ocorrência em cadáveres de insetos.

Na Indonésia, dois fungos entomopatogênicos foram isolados de adultos de *D. citri*, *Paecilomyces fumosoroseus* e *Hirsutella citriformis* (SUBANDIYAH et al., 2000a). Étienne et al. (2001) relataram a importância da segunda espécie como agente de controle biológico de ninfas e adultos de *D. citri* em áreas e períodos de alta umidade em

Guadalupe, com até 80% de insetos mortos. Um novo isolado de *H. citrifomis* foi recentemente encontrado em populações de *D. citri* nos EUA (MEYER et al., 2007a).

2.3.3.3 Parasitóides

Em três anos de amostragens, de fevereiro de 2005 a dezembro de 2007, foram observadas 12983 ninfas, de quarto e quinto ínstaes, quanto ao parasitismo por *T. radiata*, em oito áreas do estado de São Paulo, Araras, Bauru, Barretos, Botucatu, Casa Branca, Franca, Lins e São Carlos. As estimativas das taxas de parasitismo de ninfas de *D. citri* pelo ectoparasitóide *T. radiata* foram diferentes entre as áreas e os períodos estudados (Tabelas 5, 6 e 7).

Tabela 5 - Taxas de parasitismo de ninfas de quarto e quinto ínstaes de *Diaphorina citri* por *Tamarixia radiata* em pomares de laranja (*Citrus sinensis*) em São Paulo em 2005

Área	mês	ninfas observadas (n)	taxa de parasitismo (%)
Casa Branca	fevereiro	165	0,0
Lins	fevereiro	275	9,1
Lins	fevereiro	220	10,0
Lins	fevereiro	627	7,8
Barretos	março	93	66,7
Barretos	março	92	3,3
Bauru	março	185	36,8
Bauru	março	121	33,1
Bauru	março	114	74,6
Casa Branca	março	851	1,3
São Carlos	março	184	16,8
São Carlos	março	429	4,7
São Carlos	março	189	45,5
São Carlos	março	332	50,9
Barretos	abril	35	0,0
Barretos	abril	135	5,9
Barretos	abril	98	1,0
Bauru	abril	154	91,6
Botucatu	abril	101	21,8
Lins	abril	440	16,6
Lins	abril	19	0,0
Lins	abril	126	1,6
Lins	abril	53	1,9
São Carlos	abril	174	11,5
São Carlos	abril	114	0,0
São Carlos	abril	158	30,4
São Carlos	abril	156	5,8

conclusão			
Área	mês	ninfas observadas (n)	taxa de parasitismo (%)
Lins	maio	20	8,2
São Carlos	maio	191	66,5
São Carlos	agosto	972	0,1
São Carlos	agosto	654	0,0
Lins	setembro	44	6,8
Lins	setembro	513	5,7
Lins	dezembro	238	43,7

As taxas médias de parasitismo, observadas em 2005, variaram entre as áreas, bem como entre as amostragens. Houve parasitismo acima de 50% em 5 amostragens, sendo que uma delas, em Bauru, em abril de 2005, excedeu 90% de ninfas parasitadas (Tabela 5).

Foram feitas mais de uma amostragem, em uma mesma área, no mesmo mês. Os dados poderiam resultar em uma só estimativa de parasitismo; no entanto, são apresentadas as taxas obtidas em cada amostragem, pois isto permite reconhecer a grande variação que existe entre o parasitismo mesmo em locais e em períodos semelhantes. Exemplo disso foi observado em Barretos, em março de 2005. Em uma das amostras havia 66,7% de ninfas parasitadas e em outra amostra apenas 3,3% (Tabela 5). Uma das causas prováveis do baixo parasitismo pode ser o emprego de inseticidas, usados no controle de *D. citri* e outras pragas, altamente tóxicos a *T. radiata*, como demonstrado por Carvalho (2008).

Tabela 6 - Taxas de parasitismo de ninfas de quarto e quinto ínstares de *Diaphorina citri* por *Tamarixia radiata* em pomares de laranja (*Citrus sinensis*) em São Paulo em 2006

Área	mês	ninfas observadas (n)	taxa de parasitismo (%)
Barretos	fevereiro	56	12,5
São Carlos	abril	164	1,2
Franca	agosto	211	0,0
São Carlos	agosto	81	0,0
São Carlos	novembro	139	8,6
Botucatu	dezembro	62	67,7
São Carlos	dezembro	430	0,0
São Carlos	dezembro	221	12,2

Ausência de parasitismo de ninfas de *D. citri* por *T. radiata* foi constatada em 5 amostragens em 2005, em 3 amostragens em 2006 e em 9 amostragens em 2007

(Tabelas 5, 6 e 7). A falta de ramos em crescimento nas laranjeiras, resultando em ausência de ninfas de *D. citri* deve ter sido uma das principais causas da ausência de parasitismo nestas amostras. Também o controle químico, da qual *D. citri* passou a ser alvo após a introdução do HLB no Brasil, deve ter impacto negativo sobre a ocorrência natural de *T. radiata*, seja pela redução de hospedeiros, seja pelo efeito direto dos inseticidas sobre o parasitóide.

Tabela 7 - Taxas de parasitismo de ninfas de quarto e quinto ínstaes de *Diaphorina citri* por *Tamarixia radiata* em pomares de laranja (*Citrus sinensis*) em São Paulo em 2007

Área	mês	ninfas observadas (n)	taxa de parasitismo (%)
Bauru	março	71	5,6
Bauru	março	106	10,4
Botucatu	março	123	3,3
Lins	abril	913	1,4
Araras	maio	46	0,0
Bauru	maio	141	0,7
Lins	agosto	177	0,0
São Carlos	setembro	176	32,4
Botucatu	outubro	187	5,9
Botucatu	novembro	49	0,0
Franca	novembro	34	0,0
Franca	novembro	138	0,0
Franca	novembro	77	0,0
Franca	novembro	26	15,4
São Carlos	novembro	79	0,0
São Carlos	novembro	224	0,0
Bauru	dezembro	112	1,8
Botucatu	dezembro	100	0,0
Lins	dezembro	49	22,4
Lins	dezembro	38	7,9
São Carlos	dezembro	257	6,2

A maior taxa de parasitismo em 2006 foi constatada em Botucatu, no mês de dezembro, 67,7%. No ano seguinte, o maior parasitismo foi observado em São Carlos, com 32,4%, em setembro.

Os parasitismos médios em cada ano, região, cultivar e idade dos pomares amostrados foram analisados (Figura 13).

Figura 13 - Taxas médias de parasitismo (erro-padrão da média) de ninfas de quarto e quinto instares de *Diaphorina citri* por *Tamarixia radiata* em três anos, em seis regiões, em quatro cultivares de laranja (*Citrus sinensis*) e em pomares de duas idades, de 2005 a 2007

Houve diferença entre as estimativas das taxas de parasitismo nos anos de 2005, 2006 e 2007 ($F_{2,60} = 3,84$; $p=0,0270$). O parasitismo médio ($\pm$ erro-padrão da média) obtido em 2005, de 20% ($\pm 4,31$) de ninfas parasitadas foi maior, significativamente, do que o verificado em 2007, de 5,4% ($\pm 1,87$) ($t=2,73$; 53 g.l.; $p=0,0080$). Entretanto, o parasitismo médio observado em 2006, de 12,8% ($\pm 8,09$), foi intermediário entre os parasitismos de 2005 e 2007, não diferindo estatisticamente entre eles (2005x2006, $t=1,13$; 40 g.l.; $p=0,2614$; 2006x2007, $t=0,75$; 27 g.l.; $p=0,4513$).

Entre as seis regiões (Araras e Casa Branca, com uma e duas amostras, respectivamente, foram excluídas desta análise) Barretos, Bauru, Botucatu, Franca, Lins e São Carlos, não houve diferença entre as taxas de parasitismo de *D. citri* por *T. radiata* ($F_{5, 56} = 1,02$; $p=0,4119$), sugerindo que o clima não deve limitar a ocorrência do parasitóide.

A cultivar da laranja hospedeira de *D. citri* interferiu na relação entre o parasitóide *T. radiata* e o psíldeo. Houve diferença entre as taxas de parasitismo de ninfas de *D. citri* por *T. radiata* entre as quatro cultivares de *C. sinensis* estudadas ($F_{3, 52} = 28,74$; $p = 0,0441$). Na cultivar Hamilin observaram-se maiores taxas de parasitismo, $35,6 \pm 11,46\%$, do que nas cultivares Natal, $7,3 \pm 5,89\%$, ($t = 2,30$; 14 g.l.; $p = 0,0253$) e Valência, $8,6 \pm 2,29\%$ ($t = 2,43$; 37 g.l.; $p = 0,0185$). As taxas de parasitismo observadas na cultivar Pêra, $19,2 \pm 6,53\%$, não diferiram das demais cultivares ($p > 0,05$). Estudos específicos de relações entre as espécies de *Citrus*, genótipos, cultivares e as populações de *D. citri* e *T. radiata* podem ajudar no entendimento e no aprimoramento do controle biológico com este parasitóide.

Em 2006, apenas uma observação de parasitismo esteve acima de 50% (Tabela 6) e em 2007, nenhuma das amostragens mostrou tal parasitismo. Baixas taxas de parasitismo de *D. citri* por *T. radiata* foram constatadas nos EUA, quando menos de 2% das ninfas amostradas estavam mumificadas (MICHAUD, 2004) e menos de 1% de parasitismo foi constatado em murta e pomelo (TSAI et al., 2002). O primeiro autor atribuiu o baixo parasitismo a ação de predadores, que eliminariam ninfas parasitadas, já que em ramos protegidos dos predadores o parasitismo foi maior.

Em levantamentos feitos nos anos de 1983 e 1984, Aubert (1987a) não encontrou parasitóides em amostras de ninfas de *D. citri* coletadas nos municípios paulistas de Casa Branca, Matão e Mogi-Guaçu, bem como no município de Cruz das Almas, no estado da Bahia e em Boquim, estado de Sergipe. No entanto, este constatou que as populações brasileiras eram suscetíveis a *T. radiata* em laboratório, obtendo taxas de parasitismo de 95,7%. Por isso, o autor sugeriu que este parasitóide fosse introduzido no Brasil.

Em 1994 e 1995, amostras foram coletadas em vários pomares cítricos de São Paulo, confirmando a ausência de parasitóides de ninfas de *D. citri* (PAIVA, 1996). No entanto, em final de 2004, após a constatação do HLB no Brasil, o parasitóide *T. radiata* foi encontrado em vários municípios de São Paulo (GÓMEZ TORRES et al., 2006).

Este parasitóide foi introduzido nos EUA em 1999 como parte de um programa de controle biológico clássico (HOY et al., 2001). A sua constatação em Porto Rico se deu tão logo *D. citri* foi observado naquele país em 2001 (PLUKE et al., 2005).

Parte do insucesso em programas de controle biológico com *T. radiata*, especialmente em países asiáticos, tem sido atribuída à presença de hiperparasitóides, que reduziram as populações de *T. radiata* (AUBERT, 1987b). Na China, onde *T. radiata* é considerado nativo, taxas de parasitismo de 36% no verão e 46% no outono, foram observadas em Guangzhou em 1986, mesmo com a presença de hiperparasitóides (YANG et al., 2006).

Altas taxas de parasitismo aparente (relação entre adultos de *T. radiata* emergidos e *T. radiata* + *D. citri*) de ninfas grandes foram observadas em Porto Rico (PLUKE et al., 2008). Os autores sugerem que o parasitóide tem importância na regulação populacional do psíldeo, pois observaram declínio da sua população mesmo com abundância de ramos novos.

Se o parasitismo for maior sobre maiores populações de ninfas, caracterizando uma relação de densidade dependência, pode-se admitir que o controle biológico natural com *T. radiata* seria pouco compatível com o controle de HLB, visto que baixas populações de vetores infectivos podem ser suficientes para transmitir os patógenos para hospedeiros sadios. Assim, liberações inundativas poderiam ser estudadas para controle de ninfas de *D. citri* e aplicadas em complemento ao controle químico do vetor nos pomares. Além disso, hospedeiros não agrícolas, como a murta, poderiam ser alvo de liberações de parasitóides.

O controle biológico de *D. citri* por parasitóides primários, predadores generalistas e entomopatógenos seria possível apenas em áreas livres de HLB segundo Yang et al. (2006). Em culturas perenes, há sérias limitações ao controle biológico de insetos vetores de patógenos, já que muitas vezes a eficiência do inimigo natural depende da alta disponibilidade de hospedeiro, que pode acarretar altas taxas de disseminação da doença (HALBERT; MANJUNATH, 2004).

Deve ser estudada a viabilidade agrônômica e econômica do controle de ninfas de *D. citri* com liberações inoculativas e inundativas de *T. radiata*, já que as ninfas apenas adquirem os patógenos, não se movimentando entre plantas, ou mesmo entre ramos, como observado na presente pesquisa. Assim, estratégias eficientes de controle de ninfas reduziram a probabilidade de emergência de adultos infectivos de árvores infectadas.

2.3.4 Tabela de vida ecológica de *D. citri* em pomares de laranja (*C.sinensis*)

No experimento de Araras, as maiores mortalidades foram observadas para a fase de ninfa, tanto pequenas quanto grandes. Como consequência, a viabilidade de ovo a adulto foi muito baixa e dos 406 ovos observados no início do experimento foram obtidos apenas 7 adultos (Tabela 8).

Das 91 ninfas grandes vivas, 6 foram parasitadas por *T. radiata*. Assim, a taxa estimada de parasitismo foi de 6,6%. Além de parasitar as ninfas de *D. citri*, fêmeas de *T. radiata* podem causar mortalidade neste hospedeiro pela sua atividade alimentar (HOY; NUGUYEN, 2001). Não foi possível identificar outras causas bióticas de mortalidade de ninfas neste experimento, além das ninfas parasitadas (mumificadas).

Tabela 8 - Tabela de vida do psílideo *Diaphorina citri* em *Citrus sinensis*, de 18 de novembro a 7 de dezembro. Araras, SP – 2006

estágio	indivíduos	mortos	mortalidade	sobrevivência	fator
ovos	406	118	0,2906	0,7094	inviabilidade
ninfas pequenas	288	197	0,6840	0,3160	clima e hospedeiro
ninfas grandes	91	84	0,9231	0,0769	clima e hospedeiro
adultos	7				

Em Araras, foi feita uma observação de predação com uma larva do crisopídeo, *C. externa* se alimentando de um adulto de *D. citri*. Este foi o único artrópode predador observado predando o psílideo-dos-citros neste experimento. Além disso, não houve sinais de predação por artrópodes noturnos, como sugerido por Michaud (2004).

Nas três gerações da população de Piracicaba, a fase que apresentou as maiores mortalidades foi a de ovo (Tabelas 9, 10 e 11), com 61, 70 e 65% de mortalidade, na primeira, segunda e terceira gerações, respectivamente. Nenhum predador foi observado associado a ovos ou a ninfas de *D. citri* neste local.

Tabela 9 - Tabela de vida da primeira geração do psíldeo *Diaphorina citri* em *Citrus sinensis*, no período de 17 de fevereiro a 17 de março. Piracicaba, SP – 2007

estágio	indivíduos	mortos	mortalidade	sobrevivência	fator
ovos	739	452	0,612	0,388	inviabilidade
ninfas pequenas	287	114	0,397	0,603	clima e hospedeiro
ninfas grandes	173	42	0,243	0,757	clima e hospedeiro
adultos	131			0,504	razão sexual
fêmeas	66				

Comparando as três gerações de *D. citri* de Piracicaba, nota-se que foi freqüente a alta mortalidade de ovos. Porém, apenas na segunda geração houve também uma alta mortalidade de ninfas pequenas. E foi nesta geração que se constatou menor número de adultos emergidos. Pode-se, assim, admitir que a menor população de adultos foi determinada pelas altas mortalidades de ovos e ninfas pequenas. Também em Araras, poucos adultos emergiram em função da alta mortalidade de ninfas pequenas. Assim, estratégias de controle, que causem altas mortalidades nas fases de ovo e de ninfas pequenas, são fundamentais para que haja poucos adultos. Devem-se buscar medidas de controle específicas para estas fases, como por exemplo, o emprego de inseticidas com ação sobre os ovos e ninfas recém emergidas deste inseto.

Tabela 10 -Tabela de vida da segunda geração do psíldeo *Diaphorina citri* em *Citrus sinensis*, no período de 17 de março a 16 de abril. Piracicaba, SP – 2007

estágio	indivíduos	mortos	mortalidade	sobrevivência	fator
ovos	516	360	0,698	0,302	inviabilidade
ninfas pequenas	156	110	0,705	0,295	clima e hospedeiro
ninfas grandes	46	15	0,326	0,674	clima e hospedeiro
adultos	31			0,607	razão sexual
fêmeas	19				

As mortalidades observadas para ninfas grandes, em Piracicaba, foram bastante semelhantes, com 25, 33 e 25%, para a primeira, segunda e terceira gerações, respectivamente.

O parasitóide *T. radiata* teve, aparentemente, pouca contribuição na mortalidade de ninfas grandes nos experimentos em Piracicaba. Na primeira geração do estudo nenhuma ninfa parasitada foi observada. Na segunda geração, foi observada apenas uma ninfa parasitada (3,0%) e na terceira geração, duas ninfas grandes estavam

parasitadas (2,2%). Pode ter havido mortalidade adicional pela alimentação do parasitóide, sem que, no entanto, fosse possível identificar estes insetos mortos e quantificar a contribuição desta alimentação.

Tabela 11 - Tabela de vida da terceira geração do psílideo *Diaphorina citri* em *Citrus sinensis*, no período de 16 de abril a 19 de maio. Piracicaba, SP – 2007

estágio	indivíduos	mortos	mortalidade	sobrevivência	fator
ovos	617	397	0,643	0,357	inviabilidade
ninfas pequenas	220	45	0,205	0,795	clima e hospedeiro
ninfas grandes	175	43	0,246	0,754	clima e hospedeiro
adultos	132			0,561	razão sexual
fêmeas	74				

Apesar de as mortalidades de ovos serem altas no campo, acima de 60% nas três gerações da população de Piracicaba, o experimento de laboratório mostrou uma mortalidade bem menor em condições de temperatura e umidade relativa do ar semelhantes às observadas no campo, no período da tarde. Temperaturas acima de 30°C e umidades relativas do ar abaixo de 50% foram freqüentemente observadas durante a condução do experimento de campo no período das 12 às 17 horas.

De 146 ovos, coletados da população de Piracicaba (a mesma da tabela de vida), mantidos nos mesmos ramos onde foram colocados pelas fêmeas, eclodiram 78 ninfas após 24 horas do início do experimento de laboratório e 32 ninfas após 72 horas, resultando em mortalidade de ovos de 24,7%, valor que representa menos da metade da mortalidade observada em campo. Assim, outros fatores, climáticos ou não, poderiam estar envolvidos na alta mortalidade de ovos observada em campo, além da combinação de temperaturas maiores que 30°C e umidades relativas do ar menores que 50%, pelo menos em parte do dia.

Um dos mecanismos fisiológicos conhecidos para evitar a dessecação de ovos em psílideos foi demonstrado por White (1968) para a espécie *Cardiaspina densitexta* Taylor, cujos ovos absorveram água das folhas, permitindo sua adaptação às condições de alta temperatura e baixa umidade do ar.

Como foram observados outros insetos fitófagos nos ramos em crescimento, principalmente afídeos, poderia haver competição entre estes insetos e as ninfas de *D. citri* e mesmo entre as próprias ninfas. Testou-se a hipótese de que ramos com mais

ninfas pequenas resultariam em menores viabilidades, de ovo a adulto. Constatou-se o contrário, pois houve relação positiva entre a densidade inicial de ninfas pequenas e a viabilidade até a fase adulta ($F_{1,189} = 26,9$; $p < 0,0001$), ou seja, em ramos com número inicial maior de ninfas a viabilidade desta fase foi maior. Assim, não houve aparentemente competição entre elas.

É provável que em densidades como as verificadas nas populações de Piracicaba, de $7,9 \pm 0,56$ ninfas por ramo, não haja efeito de competição. Hodkinson (1974) sugeriu que, em geral, maiores densidades ninfais de psíldeos resultam em maiores mortalidades enquanto menores densidades são favoráveis à sobrevivência. Seria interessante determinar a partir de que densidade de ninfas por ramo, tal competição ocorreria em populações de *D. citri*.

As razões sexuais obtidas com os adultos emergidos foram semelhantes para as três gerações da população de Piracicaba, 0,504, 0,607 e 0,561, respectivamente, para primeira, segunda e terceira gerações; indicando que populações de campo têm proporção também praticamente de uma fêmea para cada macho, como verificado no estudo de Nava et al. (2007).

O único inimigo natural observado nos experimentos foi o parasitóide *T. radiata*, porém em baixas taxas de parasitismo, principalmente em Piracicaba. Como este inseto parasita preferencialmente ninfas de terceiro, quarto e quinto ínstares (ÉTIENNE et al., 2001), o emprego de gaiolas, para obtenção dos adultos de *D. citri* emergidos, pode ter limitado a ação do parasitóide nestes experimentos. Para quantificar o parasitismo na área, sem a interferência destas gaiolas, foi feita em 17 de abril de 2007 uma estimativa do parasitismo, com insetos coletados no mesmo pomar, mas fora da área experimental. De 126 ninfas, de quarto e quinto ínstares, observadas quanto à presença do parasitóide, apenas duas estavam parasitadas (1,6%), confirmando a baixa contribuição do parasitismo para a mortalidade de ninfas de *D. citri*.

O principal fator de mortalidade de ninfas identificado nos experimentos, principalmente em Piracicaba, foi a desfolha causadas por insetos como formigas cortadeiras, ortópteros, besouros e lagartas, entre outros, que consomem folhas novas, caracterizando competição pelo mesmo nicho alimentar de *D. citri*. Não foi possível determinar o número de ninfas mortas por tais desfolhas; no entanto, foram quantificados

os ramos com presença de folhas danificadas. O mesmo tipo de competição, com insetos desfolhadores, já havia sido observada para o psílídeo africano *T. erytreae* (VAN DEN BERG, 1990).

Em Araras, não se observou desfolha. Na primeira geração em Piracicaba, dois dos 77 ramos tiveram desfolha (2,6%). Esta desfolha foi consideravelmente maior na segunda e terceira gerações, com valores de 10,3 e 21,7%, respectivamente. Como as ninfas pequenas se desenvolvem em folhas menores e ninfas maiores em geral são encontradas em folhas de maior tamanho e a desfolha foi constatada predominantemente em folhas maiores, admite-se que a desfolha tenha afetado principalmente ninfas de quarto e quinto ínstares de *D. citri*.

Observou-se que ninfas grandes, especialmente as de quinto ínstar, se localizam no pecíolo das folhas maiores. Este comportamento pode ser de natureza alimentar ou para evitar o parasitismo, já que não se observaram ninfas parasitadas neste local; por outro lado, este posicionamento no pecíolo de folhas poderia evitar o efeito da desfolha. Isto deve ser investigado em pesquisas futuras.

Apesar da maior desfolha, na terceira geração de Piracicaba foram obtidas 74 fêmeas, a maior população das quatro gerações estudadas. As desfolhas reduziram a superfície vegetal que poderia ser explorada pelos insetos jovens, tendo um possível efeito na quantidade de alimento. Além da desfolha propriamente dita, poderia ser estudado o efeito da desfolha na qualidade nutricional das folhas para *D. citri*.

No entanto, a desfolha não é um fator controlável, já que de uma maneira prática, não é possível aumentá-la e as folhas são fundamentais ao desenvolvimento das laranjeiras e à produção de frutos.

Além do clima, parece ter influência sobre a mortalidade, ou a sobrevivência, de ninfas de *D. citri*, o ramo e a árvore hospedeira em que o inseto se desenvolve. Aspectos nutricionais do ramo devem ser relevantes ao desenvolvimento do inseto, já que árvores enxertadas são plantas hospedeiras "não naturais" do inseto. Duas espécies de citros combinadas ou gêneros compatíveis, como a laranjeira *C. sinensis* enxertada em limão *C. limonia* ou em citrumelo swingle, um híbrido de *C. paradisi* e *P. trifoliata*, resultam em um hospedeiro "desconhecido" do inseto durante sua evolução, que se deu em hospedeiros propagados por sementes de espécies de *Citrus* e outras rutáceas.

As sobrevivências de ovos e ninfas variaram muito entre os ramos, de 0 a 100%. Por isso testou-se a hipótese que ramos maiores permitiriam maiores sobrevivências de ninfas e conseqüentemente maiores viabilidades de ovo-adulto de *D. citri*, pois em geral ramos maiores têm mais folhas e podem funcionar como drenos de fotoassimilados mais fortes, recebendo maior fluxo de seiva.

Na primeira e na terceira gerações de Piracicaba não houve relação entre o comprimento final do ramo e a viabilidade de ovo-adulto (primeira - $F_{1,69} = 0,002$; $p=0,9635$, terceira - $F_{1,57} = 0,25$; $p=0,6167$). Na primeira e na terceira gerações, o comprimento médio ($\pm$ erro-padrão da média) final do ramo foi de $25,0 \pm 0,95$ e $17,0 \pm 1,11$ cm, respectivamente. No entanto, houve correlação significativa e positiva entre o comprimento final do ramo, $21,2 \pm 0,95$ cm, e a viabilidade das fases imaturas de *D. citri* na segunda geração estudada ($F_{1,55} = 5,64$; $p=0,0210$).

Entretanto, considerando-se os dados das três gerações de Piracicaba, a viabilidade de ovo a adulto não dependeu do comprimento final dos ramos das laranjeiras, ($21,3 \pm 0,66$ cm) onde os insetos se desenvolveram ($F_{1,185} = 0,94$; $p=0,3318$).

Apesar dos ramos em crescimento das laranjeiras terem características diferentes, como comprimento, número e tamanho de folhas, posição na árvore, arquitetura, entre outros, o número médio de ovos colocados por fêmeas em cada ramo foi semelhante entre as quatro gerações de *D. citri* estudadas ($F_{3,246} = 2,30$; $p=0,0781$) (Tabela 12).

Tabela 12 - Características das posturas de *Diaphorina citri* em ramos em crescimento, principalmente gemas recém brotadas, de laranjeiras (*Citrus sinensis*) em 2006 e 2007

Local e geração	ramos (n)	ovos de <i>D. citri</i> / ramo		
		média ($\pm$ EP)	mínimo	máximo
Araras	58	$7,1 \pm 0,85$	1	31
Piracicaba, 1° geração	74	$9,4 \pm 0,93$	1	35
Piracicaba, 2° geração	58	$8,7 \pm 0,70$	2	26
Piracicaba, 3° geração	60	$9,8 \pm 0,94$	1	30

Apesar de não haver diferença entre o número de ovos nas quatro gerações avaliadas, houve variação do número de ovos por ramo. Considerando-se todas as posturas contadas nas quatro gerações, nota-se que predominaram posturas de 2 a 10

ovos por ramo. Menos freqüentes foram os ramos com densidades com 11 ovos por ramo ou mais (Figura 14).

A densidade média de ovos de *D. citri* por ramo observada nestes experimentos, em São Paulo, foi de $8,74 \pm 0,854$, metade daquela verificada na Flórida (EUA), de 16,0 ovos em média por ramo (HALL et al., 2008).

As fêmeas de *D. citri* depositam seus ovos, preferencialmente, em gemas pequenas que estão iniciando a brotação. Pouco freqüentemente os ovos foram depositados em ramos maiores, com mais de 2 cm de comprimento. Pode ser uma estratégia de sobrevivência da espécie, ou seja, colocar poucos ovos em mais ramos, ao invés de muitos ovos em poucos ramos. Isto aumentaria muito o risco de disseminação do HLB, se no processo de seleção hospedeira as fêmeas se alimentarem antes da oviposição. Este aspecto do comportamento alimentar deste inseto deve ser esclarecido.

Figura 14 - Número de ramos em crescimento, principalmente gemas recém brotadas, de laranjeiras com diferentes densidades de ovos de *Diaphorina citri* nas populações de Araras e Piracicaba, em 2006 e 2007

Testou-se a hipótese de que as gemas, recém brotadas, ou ramos em início de crescimento, que produziram ramos maiores, teriam mais ovos. Não houve relação entre o número de ovos e o comprimento final do ramo ($F_{1,185} = 0,34$; $p=0,5583$).

A forma como as fêmeas de *D. citri* fazem a seleção hospedeira para oviposição é ainda desconhecida. No entanto, estas ovipositam em gemas recém brotadas, que podem ter características físicas e nutricionais distintas, o que explicaria a variação do número de ovos depositados em cada ramo.

Estimou-se a duração do período de ovo a adulto do psíldeo pelo intervalo entre o início do experimento (posturas) e a emergência dos adultos. A viabilidade deste período foi obtida pela relação entre o número de adultos emergidos e o de ovos no início do experimento (Tabela 13).

Tabela 13 - Médias de temperaturas máximas e mínimas diárias (°C), precipitação pluvial acumulada (mm), dias de precipitações pluviais durante os experimentos e dados biológicos de *Diaphorina citri*, em 2006 e 2007

Local e geração	período	precipitações pluviais (mm) (dias)	temp. max (°C)	temp. min (°C)	duração ovo-adulto (dias)	viabilidade ovo-adulto (%)
Araras	18.nov a 7.dez	92 (5)	31,5	20,4	18,0	1,7
Piracicaba						
1° geração	17.fev a 17.mai	111(7)	32,6	19,6	21,7	17,6
Piracicaba						
2° geração	17.mar a 16.ab	106 (7)	31,6	18,2	21,9	6,0
Piracicaba						
3° geração	16.abr a 19.ma	30 (2)	28,1	15,2	24,7	21,4

As viabilidades de ovo a adulto diferiram entre as quatro gerações de *D. citri* estudadas ($F_{3,241} = 6,34$; $p=0,0004$). As menores viabilidades foram observadas em Araras e na segunda geração de Piracicaba, com 1,7 e 6,0%, respectivamente. Por outro lado, as maiores viabilidades ocorreram na primeira e na terceira gerações da população de Piracicaba, com 17,6 e 21,4%.

As temperaturas médias diárias, máximas e mínimas, bem como as precipitações pluviais e o número de dias com precipitações pluviais, foram semelhantes em Araras e nas duas primeiras gerações de Piracicaba. Na terceira geração de Piracicaba, houve redução das temperaturas e das precipitações pluviais.

Trabalhos de laboratório mostraram menores durações do período ovo-adulto, de 17 a 18 dias a 25°C (TSAI; LIU, 2000) e de 14 dias, na mesma temperatura (NAVA et al., 2007) em relação àquelas obtidas no presente trabalho. As sobrevivências de imaturos de *D. citri* verificadas em condições controladas, nos mesmos trabalhos, foram significativamente maiores, ou seja, 70% (TSAI; LIU, 2000) e 70 a 80% (NAVA et al., 2007) em relação às sobrevivências obtidas em campo. As sobrevivências foram menores do que 10% em Araras e na segunda geração de Piracicaba e menores do que 25% na primeira e terceira gerações de Piracicaba.

A emergência dos adultos ocorreu em duas ou mais datas sendo que o número de adultos foi diferente entre as datas (Figura 15). A duração de ovo a adulto pode ser ligeiramente maior do que a observada nesta pesquisa, já que os ovos tinham idade desconhecida e muitos poderiam estar próximos da eclosão de ninfas quando se iniciaram os experimentos.

Os picos de emergência dos adultos foram semelhantes entre as populações de Araras (19 dias) e a primeira e segunda gerações de Piracicaba (19 e 20 dias). Na terceira geração de Piracicaba, a maior emergência de adultos se deu 25 dias após o início do experimento, devido ao efeito de temperaturas menores. Como não foram feitas observações diárias, as emergências de adultos podem ter sido anteriores às constatadas nas datas de avaliação.

Figura 15 - Duração do período de ovo a adulto, em dias, e número de adultos emergidos de *Diaphorina citri* em quatro gerações entre novembro de 2006 e maio de 2007 em Araras e Piracicaba, SP

A emergência de adultos ao longo de vários dias pode ser uma estratégia evolutiva de sobrevivência desta espécie de inseto, pois a disponibilidade de ramos de citros em crescimento, recurso essencial à alimentação e reprodução de *D. citri*, também ocorre ao longo do tempo, o que pode dificultar o controle deste inseto.

Compararam-se os valores da duração de ovo-adulto observados em campo com os valores esperados obtidos de três modelos baseados nas exigências térmicas de *D. citri*, tomando-se a média das temperaturas diárias no período de cada geração de campo (Tabela 14).

Tabela 14 - Valores observados para duração de ovo a adulto de *Diaphorina citri*, em dias, nas quatro gerações estudadas e valores estimados segundo modelos matemáticos de exigências térmicas

Local e geração	média das temperaturas diárias(°C)	duração de ovo-adulto (dias)			
		observado	Liu & Tsai (2000) $1/D=0,0040*T-0,0418$	Nakata (2006) $1/D=0,0043*T-0,0523$	Nava et al. (2007) $1/D=0,0047*T-0,0641$
		(campo)			
Araras	26,0	18,0	16,1	16,8	16,9
Piracicaba					
1° geração	26,1	21,7	16,0	16,7	16,8
Piracicaba					
2° geração	24,9	21,9	17,3	18,3	18,5
Piracicaba					
3° geração	21,6	24,7	22,4	24,6	26,1
Valor de χ^2 , 3 g.l.			3,74	2,32	2,20
probabilidade			0,2914	0,5091	0,5321

Os valores esperados, obtidos do modelo matemático proposto por Nava et al. 2007, com uma população brasileira de *D. citri*, não diferiram dos valores observados para duração de ovo a adulto deste inseto, neste trabalho. O modelo de Nakata (2006), construído com uma população japonesa foi também aplicado e comparado às durações observadas em campo, sendo que não houve diferença entre as durações. Do mesmo modo, Liu & Tsai (2000), com populações de *D. citri* recém introduzidas nos EUA, obtiveram durações de ovo-adulto semelhantes às durações observadas em pomares brasileiros (Tabela 14).

Poder-se-ia considerar que as populações de São Paulo (Brasil), tanto as estudadas por Nava et al. (2007), quanto as de Araras e Piracicaba, bem como as populações do Japão e da Flórida (EUA) tiveram exigências térmicas semelhantes para as fases imaturas.

Apesar das temperaturas médias diárias terem sido semelhantes em Araras e em Piracicaba, para a primeira geração, as durações de ovo a adulto não foram as mesmas, ou seja, de 18,0 e 21,7 dias, respectivamente, pois se tratavam de populações

de locais diferentes. No entanto, as viabilidades em campo foram bem menores do que as observadas em condições de laboratório. Em *M. paniculata*, com temperaturas de 15 a 30 °C, as viabilidades de ovo-adulto foram maiores que 60% (LIU; TSAI, 2000) e em *C. limonia*, com temperaturas de 18 a 30 °C, as viabilidades foram maiores que 70% (NAVA et al., 2007). Assim, devem existir fatores do clima, da planta hospedeira, competição inter e intra-específicas entre outros, que determinariam menores viabilidades em campo.

Apesar de, neste trabalho, o inseto ter sido estudado por quatro gerações em menos de um ano, o período compreendeu as estações de primavera, verão e outono do ano, período em que têm sido encontradas as maiores populações do inseto. As observações de que as maiores mortalidades ocorrem nas primeiras fases de vida (ovos e primeiros ínstaes ninfais) demonstra que estas são mais suscetíveis às condições adversas do clima e do hospedeiro.

Mortalidades adicionais às ninfas de últimos ínstaes causadas pelo parasitóide *T. radiata* foram baixas, mas podem ser aumentadas com liberações deste inseto. A baixa ocorrência de insetos predadores associados a ovos e ninfas de *D. citri* em São Paulo, sugere que possa haver mecanismos de defesa nas populações deste psílideo, exigindo estudos nesta direção.

Nas condições do presente estudo, não foram observados danos diretos como a presença de fumagina nas plantas atacadas por ninfas de *D. citri* como citado na literatura, nem morte de gemas ou queda de folhas.

3 Conclusões

1. Não existe um padrão de distribuição temporal de *Diaphorina citri*, em São Paulo, sendo tal distribuição variável de acordo com a disponibilidade e abundância de ramos novos, embora o tamanho da população seja dependente do clima;

2. As maiores infestações de ninfas de *D. citri*, considerando as proporções de ramos com presença desta fase do inseto, são observadas na área de São Carlos e as menores em Araras. As maiores infestações de adultos de *D. citri* são constatadas nas áreas de Bauru, Botucatu, Lins e São Carlos e as menores infestações em Araras e Casa Branca;

3. *D. citri* apresenta, predominantemente, um padrão de distribuição espacial do tipo agregada;
4. A ocorrência de predadores sobre *D. citri* é muito baixa;
5. As taxas de parasitismo de ninfas de quarto e quinto ínstaes de *D. citri* por *Tamarixia radiata* são variáveis entre as regiões e a época do ano, com intervalo de 0 a 91,6%;
6. O parasitismo por *T. radiata* é variável com a cultivar de *Citrus sinensis* utilizada;
7. As durações do período ovo-adulto de *D. citri* são muito semelhantes nas quatro gerações estudadas, de 18,0 a 24,7 dias, porém as viabilidades do mesmo período variam de 1,7 a 21,4%, dependendo da região e da época de estudo;
8. Os resultados obtidos para o ciclo de *D. citri* em condições de campo seguem os modelos baseados nas exigências térmicas do inseto;
9. As fases chaves para o crescimento populacional de *D. citri* são as fases de ovo e ninfa pequena.

REFERÊNCIAS

- AUBERT, B. Le psylle asiatique des agrumes (*Diaphorina citri* Kuwayama) au Brésil. Situation actuelle et perspectives de lutte. **Fruits**, Paris, v.42, n. 4, p.225-229, 1987a.
- AUBERT, B. *Trioza erythrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v.42, n. 3, p.149-162, 1987b.
- BASSANEZI, R.B.; MONTESINO, L.H.; BUSATO, L.A.; STUCHI, E.S. Damages caused by Huanglongbing on sweet orange yield and quality in São Paulo. In: Huanglongbing - GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, 2006, Ribeirão Preto. **Resumos**.....Ribeirão Preto, 2006. Resumo S17.
- BELLOWS JR.;T.S.; VAN DRIESCHE, R.G.; ELKINTON, J.S. Life-table construction and analysis in the evaluation of natural enemies. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 37, p. 587-614, 1992.
- BERGMANN, E.C.; FERNANDES, S.C.S.; FARIA, A.M. Surto de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae), em pomares cítricos no estado de São Paulo. **Biológico**, São Paulo, v. 56, n. 1/2, p. 22–25, 1994.
- BOVÉ, J.M. Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Piza, v. 88, n. 1, p. 7-37, 2006.
- 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: WEATHERS, L.G. ; COHEN, M.(Ed.). In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 6.,1974.Richmond. **Proceedings...** Richmond: University of California, 1974. p. 43-49.
- CARVALHO, S.P.L. **Toxicidade de inseticidas neonicotinóides sobre o psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) e o parasitóide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)**. 2008. 59 p. Tese (Doutorado em Ciências – Área Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.
- CHIEN, C.C.; CHIU, S.C.; KU, S.C. Biological control of *Diaphorina citri* in Taiwan. **Fruits**, Paris, v. 44, n. 7/8, p. 401-407, 1989.
- COLETTA-FILHO, H.D.; TARGON, M.L.P.N.; TAKITA, M.A.; DE NEGRI, J.D.; POMPEU JR., J.; MACHADO, M.A.; DO AMARAL, A.M.; MULLER, G.W. First Report of the Causal Agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v.88, n. 12, p.1382, 2004.

COSTA LIMA, A.M. **Insetos do Brasil**; Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. 101 p. (Série didática, 3: Homoptera).

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

ÉTIENNE, J.; QUILICI, S.; MARIVAL, D.; FRANCK, A. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Fruits**, Paris, v.56, n. 5, p. 307-315, 2001.

GÓMEZ 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* (Hemiptera: Psyllidae) em São Paulo, Brasil. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 81, p. 112-117, 2006.

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**, Gainesville, v. 87, n. 3, p. 330-353, 2004.

HALBERT, S.E.; NUNEZ, C.A. Distribution of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchoa: Psyllidae) in the Caribbean basin. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.87, n. 3, p.401-402, 2004.

HALL, D. G.; ALBRIGO, L. G. Estimating the relative abundance of flush shoots in *Citrus*, with implications on monitoring insects associated with flush. **HortScience**, St. Joseph, v.42, n. 2, p. 364-368, 2007.

HALL, D.G.; HENTZ, M.G.; ADAIR JR.R.C. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. **Environmental Entomology**, Washington, v. 37, n. 4, p. 914-924, 2008.

HARCOURT, D.G. The development and use of life tables in the study of natural insect populations. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 14, p. 175-196, 1969.

HODKINSON, I.D. The biology of the Psylloidea (Homoptera): a review. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 64, p.325-339, 1974.

HOY, M.A.; JEYAPRAKASH, A.; NGUYEN, R. Long PCR is a sensitive method for detecting *Liberobacter asiaticum* in parasitoids undergoing risk assessment in quarantine. **Biological Control**, Orlando, v. 22, p. 278-287, 2001.

HOY, M.A.; NGUYEN, R. Classical biological control of Asian citrus psylla. **Citrus Industry**, Ocala, v. 81, n. 12, p.48-50, 2001.

HUNG, T.H.; HUNG, S.C.; CHEN, C.N.; HSU, M.H.; SU, H.J. Detection by PCR of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium causing citrus huanglongbing in vector psyllids: Application to the study of vector-pathogen relationships. **Plant Pathology**, Oxford, v. 53, p.96-102, 2004.

JEYAPRAKASH A.; HOY M.A. Long PCR improves *Wolbachia* DNA amplification: *wsp* sequences found in 76% of 63 arthropod species. **Insect Molecular Biology**, Oxford, v.9, n. 4, p.393–405, 2000.

KATO, C.M.; AUAD, A.M.; BUENO, V.H.P. Biological and etiological aspects of *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera: Coccinellidae) on *Psylla* sp. (Homoptera: Psyllidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 1, p.19-23, 1999.

KNAPP, J. L.; HALBERT, S.; LEE, R.; HOY, M.; CLARK, R.; KESINGER, M. The Asian citrus psyllid and Citrus Greening Disease. **Citrus Industry**, Ocala, v. 79, n.10, p. 28-29, 1998.

KOBAYASHI, S. Estimation of the individual number entering each development stage in an insect population. **Research on Population Ecology**, Kyoto, v.10, p. 40-44, 1968.

KUNO, E. Sampling and analysis of insect populations. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 36, p.285-304, 1991.

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**, London, v.137, n. 3, p. 201-216, 2000.

MANJUNATH, K.L.; HALBERT, S.E.; RAMADUGU, C.; WEBB, S.; LEE, R.F. Detection of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' in *Diaphorina citri* and its importance in the management of citrus huanglongbing in Florida. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 98, n. 4, p. 387-396, 2008.

MARUYAMA, W.I.; BARBOSA, J.C.; FERNANDES, M.G.; YAMAMOTO, P.T. Distribuição espacial de *Dilobopterus costalimai* Young (Hemiptera: Cicadellidae) em citros na região de Taquaritinga, SP. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 35-40, 2002.

MARUYAMA, W. I.; BARBOSA, J.C.; TOSCANO, L.C. Distribuição espacial de *Oncometopia facialis* (Signoret) (Hemiptera: Cicadellidae) em pomar cítrico. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 93-100, 2006.

McDANIEL, J.R.; MORAN, V.C. The parasitoid complex of the citrus psylla *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Homoptera: Psyllidae). **Entomophaga**, Paris, v.17, n. 3, p.297-317, 1972.

- 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**, Gainesville, v. 84, n. 2, p. 227-233, 2001.
- MEYER, J.M.; HOY, M.A.; BOUCIAS, D.G. Morphological and molecular characterization of a *Hirsutella* species infecting the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), in Florida. **Journal of Invertebrate Pathology**, Riverside, v. 95, p. 101-109, 2007a.
- MEYER, J.M.; HOY, M.A.; SINGH, R.A. Low incidence of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations between Nov 2005 and Jan 2006: Relevance to management of citrus greening disease in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 90, n. 2, p. 394-397, 2007b.
- MICHAUD, J.P. Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.84, n. 4, p. 608-612, 2001.
- MICHAUD, J.P. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. **Biological Control**, Orlando, v. 29, p.260–269, 2004.
- MICHAUD, J. P. OLSEN, L. E. Suitability of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, as prey for ladybeetles. **BioControl**, Dordrecht, v.49, p. 417–431, 2004.
- MORISITA, M. I_m index, a measure of dispersion of individuals. **Research on Population Ecology**, Kyoto, v.4, p. 1-7, 1962.
- NAKATA, T. Temperature-dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of its spread based on overwintering in the nymphal stage in temperate regions of Japan. **Applied Entomology and Zoology**, Tokyo, v.41, n. 3, p. 383–387, 2006.
- 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 at different temperatures. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 131, n. 9 e 10, p. 709–715, 2007.
- PAIVA, P. E. B. Flutuação populacional da *Diaphorina citri* (Hemiptera, Psyllidae) em citros no estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v.17, p. 254-255, 1996.
- PARRA, J. R. P.; GOMEZ TORRES, M. L.; PAIVA, P. E. B. Eficiência do parasitóide *Tamarixia radiata* para controle do psíldeo *Diaphorina citri* em São Paulo. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, v.11, n. 61, p. 18-19, 2007.

- PLUKE, R. W. H.; ESCRIBANO, A.; MICHAUD, J. P.; STANSKY, P. A. Potential impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Puerto Rico. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.88, n. 2, p.123-128, 2005.
- PLUKE, R. W. H., QURESHI, J. A., STANSKY, P.A. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.91, n. 1, p. 36-42, 2008.
- ROGERS, M.E.; STANSKY, P.A. Psyllid management update. **Citrus Industry**, Ocala, v. 88, n. 4, p. 19-21, 2007.
- SAMWAYS, M. J.; MANICOM, B. Q. Immigration, frequency distributions and dispersion patterns of the psyllid *Trioza erytreae* (Del Guercio) in a citrus orchard. **Journal of Applied Ecology**, Oxford, v. 20, p. 463-472, 1983.
- SAMWAYS, M.J. Weather and monitoring the abundance of the adult citrus psylla *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hom., Triozidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 103, p. 502-508, 1987.
- SAS Institute. 2000. SAS Users guide: Statistics version 8.02 for Windows. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- SÉTAMOU, M.; FLORES, D.; FRENCH, J.V.; HALL, D.G. Dispersion patterns and sampling plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Citrus. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 101, n. 4, p. 1478-1487, 2008.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILA NOVA, N. A. **Manual de ecologia dos insetos**, São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1976. 419p.
- SKELLEY, L.H.; HOY, M.A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, Orlando, v. 29, p. 14-23, 2004.
- SOUTHWOOD, T.R.E. **Ecological methods**: with particular reference to the study of insect populations. 2nd ed. London:Chapman and Hall: Willey, 1978. 524p.
- STANSKY, P.A.; QURESHI, J. Controlling asian citrus psyllids; sparing biological control. **Citrus Industry**, Ocala, v. 89, n. 2, p. 20-24, 2008.
- SUBANDIYAH, S.; NIKOH, N.; SATO, H.; WAGIMAN, F.; TSUYUMU, S.; FUKATSU, T. Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera, Psylloidea) in Indonesia. **Mycoscience**, New York, v. 41, p.509-513, 2000a.
- SUBANDIYAH, S.; NIKOH, N.; TSUYUMU, S.; SOMOWIYARJO, S.; FUKATSU, T. Complex endosymbiotic microbiota of the citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea). **Zoological Science**, Tokyo, v. 17, p. 983-989, 2000b.

TAYLOR, L.R. Aggregation, variance and the mean. **Nature**, London, v.189, n. 4766, p. 732-735, 1961.

TAYLOR, L.R. Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 29, p.321-357, 1984.

TEIXEIRA, D.C.; SAILLARD, C.; EVEILLARD, S.; DANET, J. L.; COSTA, P.I.; AYRES, A.J.; BOVE, J. 'Candidatus Liberibacter americanus', associated with citrus huanglongbing (greening disease) in São Paulo State, Brazil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v.55, p.1857-1862, 2005.

TOLEDO, F.R.; BARBOSA, J.C.; YAMAMOTO, P.T. Distribuição espacial de *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Homoptera: Psyllidae) na cultura de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 194-198, 2006.

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.

TSAI, J. H.; WANG, J. J.; LIU, Y. H. Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange Jessamine in southern Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 83, n. 4, p.446-459, 2000.

TSAI, J. H.; WANG, J. J.; LIU, Y. H. Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. **Florida Entomologist**, Gainesville, v.85, n. 3, p. 446-451, 2002.

VAN DEN BERG, M.A. The Citrus Psylla, *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Homoptera: Triozidae): A Review. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 30, p. 171-194, 1990.

VARLEY, G.C.; GRADWELL, G.R. Factors in insect population studies. **Journal of Animal Ecology**, Oxford, v. 29, n. 2, p. 399-401, 1960.

WENNINGER, E.J.; HALL, D.G. Daily timing of mating and age at reproductive maturity in *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Gainesville, v.90, n. 4, p. 715-722, 2007.

WERNEGREN, J.J. Genome evolution in bacterial endosymbionts of insects. **Nature Reviews**, London, v.3, p.850–861, 2002.

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

YAMAMOTO, P.T.; GRAVENA, S. Espécies e abundância de cigarrinhas e psíldeos (Homoptera) em pomares cítricos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 169-176, 2000.

YAMAMOTO, P.T.; PAIVA, P.E.B.; GRAVENA, S. Flutuação Populacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em Pomares de Citros na Região Norte do Estado de São Paulo. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n. 1, p.165-170, 2001.

YAMAMOTO, P.T.; FELIPPE, M.R.; GARBIM, L.F.; COELHO, J.H.C.; MARTINS, E.C.; LEITE, A.P.R.; SOUSA, M.C.; ABRAHÃO, D.P.; BRAZ, J.D. *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae): Vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. In: HUANGLONGBING - GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, 2006, Ribeirão Preto. **Proceedings**.....Ribeirão Preto, 2006. Resumo p.18.

YAMAMOTO, P.T. Manejo do psíldeo *Diaphorina citri*. **Citricultura Atual**, Cordeirópolis, v.12, n. 65, p. 8-9, 2008.

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