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

**Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908
(Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922)
(Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do
parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo**

Alexandre José Ferreira Diniz

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

**Piracicaba
2013**

Alexandre José Ferreira Diniz
Engenheiro Agrônomo

Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo

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

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

**Piracicaba
2013**

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

Diniz, Alexandre José Ferreira

Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo / Alexandre José Ferreira Diniz. - - Piracicaba, 2013.

128 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2013.

1. Criação em larga escala 2. *T. radiata* 3. HLB 4. Controle biológico I. Título

CDD 595.79
D585o

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

**À Deus por ter me amparado até aqui,
AGRADEÇO**

**Aos meus pais, Claret e Solange, minha irmã Patrícia, meus avós
Cristovão e Genoveva, todos tios e tias pelo apoio incondicional
nesta caminhada,**

DEDICO

**A todas pessoas que acreditam que é possível contruir uma nova
agricultura, mais limpa, mais justa, mais sustentável.**

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Parra, pela dedicação e ensinamentos, que fazem dele um verdadeiro mestre e exemplo de profissional, pela confiança e paciência durante estes anos;

A todos os professores do Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP pelos ensinamentos;

Ao Fundecitrus pelo apoio financeiro e colaboração de todos seus técnicos, sem os quais este trabalho não teria sido possível;

A todos funcionários do Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP e da Fundação de Apoio à Pesquisa Agrícola (Fundag), que foram fundamentais para o funcionamento do projeto;

A tia Neide e Cris Jensen pela ajuda, pelo café, pela paciência e risos durante este tempo;

A todos colegas das pós graduação, Alex, Viviane, Emilene, Vanessa, Felipe, Elisangela, Ana Paula, Julianas, Amanda, Angelina, Thiago, Renata, Gabriel, Alexandre, Joana, Alines, Leandro, Nardi, Levi, Fernando, Priscila, Fernanda, Maria Fernanda, Guilherme, Márcio, Marcos, André, Janayne, Sandra, Patrícia, pelo convívio;

A fantástica equipe da *Diaphorina*, Adriana, Angela, Jaci, Laís, Elen G, Elen A, pela disposição, paciência, ajuda e pelas piadas, pois foram fundamentais para produzir os intermináveis insetos para todos os trabalhos;

Aos companheiros de república pela convivência durante estes quatro anos, Anselmo, Augusto, Aloísio, Tiago, Cecílio, Samuel, Talita e todos agregados que por aqui passaram;

Ao Ricardo e Luzimário que muito contribuíram para análises;

Aos meus queridos amigos, com os quais partilhei bons momentos e me acolheram nos difíceis, Melissa, Cherre Sade, Rízia, Franciele, Eliane Grisoto, Ana Cristina, Paulo, Rodrigo, Fábio Dossi e TC, por engrandecerem minha jornada;

Ao grande amigo John Jairo que fez as perguntas certas, importantes para minha reflexão;

Ao grande amigo, Gustavo Rodrigues Alves, pela amizade incondicional e cuja ajuda foi fundamental para continuidade nos momentos mais difíceis;

A Bruno Weiss, pelo carinho e apoio durante este último ano;

A minha amiga do coração, Ana Carolina, que esteve ao meu lado desde o começo, e foi de extrema importância para essa conquista.

*Liberdade - essa palavra
que o sonho humano alimenta:
que não há ninguém que explique,
e ninguém que não entenda!*

Cecília Meireles

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
2.1 Huanglongbing (HLB) ou Greening.....	19
2.1.1 Aspectos Gerais e Sintomas.....	19
2.1.2 Agentes Causais.....	21
2.1.3 Hospedeiros.....	22
2.1.4 Medidas de manejo e controle.....	23
2.1.5 Transmissão.....	25
2.2 <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae).....	25
2.2.1 Aspectos gerais e biologia de <i>D. citri</i>	25
2.2.2 Comportamento alimentar de <i>D. citri</i>	28
2.2.3 Dispersão de <i>D. citri</i>	29
2.2.4 Hospedeiros de <i>D. citri</i>	30
2.2.5 Danos provocados por <i>D. citri</i>	30
2.2.6 Transmissão de agentes causadores do HLB.....	31
2.2.7 Métodos de manejo e controle.....	32
2.2.8 Controle biológico de <i>D. citri</i>	34
2.3 <i>Tamarixia radiata</i> (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae).....	35
2.4 Referências	41
 3 AVALIAÇÃO DE ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) E <i>Tamarixia</i> <i>radiata</i> (WATERSTON, 1922) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE), VISANDO A OTIMIZAÇÃO DA CRIAÇÃO DO INIMIGO NATURAL.....	55
Resumo.....	55
Abstract.....	56
3.1 Introdução.....	57
3.2 Material e métodos.....	58
3.2.1 Experimentos referentes à criação de <i>D. citri</i>	58
3.2.1.1 Efeito do tamanho das brotações das plantas de murta (<i>Murraya</i> <i>paniculata</i>) (L.) Jack sobre a fertilidade e preferência alimentar de <i>D. citri</i>	58
3.2.1.2 Biologia e preferência de oviposição de <i>D. citri</i> em dois hospedeiros, <i>M.</i> <i>paniculata</i> e <i>Murraya koenigii</i> (L.) Sprengel.....	60
3.2.2 Experimentos referente à criação de <i>Tamarixia radiata</i> (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae).....	61
3.2.2.1 Otimização da criação de <i>T. radiata</i> utilizando-se ramos destacados com ninfas parasitadas.....	61
3.2.2.2 Efeito de alimentação suplementar de <i>T. radiata</i> na sua longevidade e capacidade de parasitismo.....	62
3.2.2.3 Validação do modelo de exigências térmicas para <i>Tamarixia radiata</i> e <i>Diaphorina citri</i>	63
3.3 Resultados de Discussão.....	65
3.3.1 Efeito do tamanho das brotações das plantas de murta [<i>Murraya</i> <i>paniculata</i> (L.) Jack] sobre a fertilidade e preferência alimentar de <i>Diaphorina</i> <i>citri</i> Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae).....	65

3.3.2 Biologia e preferência alimentar e de oviposição de <i>D. citri</i> em dois hospedeiros, <i>M. paniculata</i> e <i>Murraya koenigii</i> (L.) Sprengel.....	68
3.3.3 Otimização da criação de <i>T. radiata</i> utilizando-se ramos destacados com ninfas parasitadas.....	72
3.3.4 Efeito de alimentação suplementar sobre capacidade de parasitismo e longevidade de <i>T. radiata</i>	75
3.3.5 Validação do modelo de exigências térmicas para <i>T. radiata</i> e <i>D. citri</i>	78
3.4 Conclusões.....	80
3.5 Referências.....	82

4 MODELO DE UMA CRIAÇÃO MASSAL DE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) VISANDO À PRODUÇÃO DE <i>Tamarixia radiata</i> (WATERSTON, 1922) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SUA ESTIMATIVA ECONÔMICA.....	87
Resumo.....	87
Abstract.....	88
4.1 Introdução.....	89
4.2 Material e métodos.....	90
4.2.1 Manutenção das plantas de murta [<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack].....	90
4.2.1.1 Determinação do número de ciclos de utilização (podas) das mudas de murta na criação de <i>D. citri</i>	91
4.2.2 Metodologia de criação de <i>D. citri</i>	91
4.2.3 Metodologia de criação de <i>T. radiata</i>	93
4.2.4 Dimensionamento do sistema de criação.....	95
4.2.5 Cálculo dos custo de implantação e manutenção do sistema.....	96
4.3 Resultados e discussão.....	97
4.3.1 Tempo de utilização das plantas de murta [<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack]..	97
4.3.2 Avaliação dos aspectos biológicos e operacionais referentes à implantação da criação das duas espécies.....	98
4.3.3 Aspectos financeiros.....	101
4.3.3.1 Custo total de implantação.....	101
4.3.3.2 Custo de produção médio.....	102
4.4 Considerações gerais.....	104
4.5 Referências.....	105

5 ESTABELECIMENTO DE <i>Tamarixia radiata</i> (WATERSTON, 1922) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) SOBRE <i>Diaphorina citri</i> KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) APÓS LIBERAÇÕES INOCULATIVAS NO ESTADO DE SÃO PAULO.....	107
Resumo.....	107
Abstract.....	108
5.1 Introdução.....	109
5.2 Materiais e métodos.....	110
5.2.1 Avaliação do estabelecimento e capacidade de parasitismo de <i>Tamarixia radiata</i> (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) em condições de campo.....	110
5.3 Resultados e discussão.....	113
5.3.1 Parasitismo Natural.....	113
5.3.2 Migração de <i>T. radiata</i>	114

5.3.3 Liberação e parasitismo em pomares domésticos ou áreas urbanas com presença de murta, e sem aplicação de agroquímicos.....	115
5.4 Conclusões.....	124
5.5 Referências.....	125

RESUMO

Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo

Medidas para controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) vem sendo buscadas intensamente nos últimos anos visto que este inseto é considerado a mais importante praga da citricultura devido a sua capacidade de transmitir as bactérias causadoras do Huanglongbing (HLB). Como não existem, ainda, medidas curativas para a doença, seu manejo se baseia, principalmente, no controle do vetor. O controle biológico com utilização do parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) vem trazendo bons resultados em diversas partes do mundo. Para uma eficiente utilização deste inimigo natural, sua produção em larga escala é imprescindível, o que exige também a criação da praga. Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar alguns pontos-chaves da criação das duas espécies, visando aumentar seu rendimento, propor um sistema de produção em larga escala do parasitoide, estimando seu custo de implantação e manutenção e também avaliar o estabelecimento e eficiência do parasitoide liberado em diferentes regiões produtoras do estado de São Paulo. Visando a criação de *D. citri*, foram avaliados aspectos referentes ao tamanho das brotações do hospedeiro [*Murraya paniculata* (L.)] e viabilidade de uso de outro hospedeiro [*Murraya koenigii* (L.) Sprengel]. Para *T. radiata* foram investigados os efeitos da alimentação suplementar e um novo sistema de coleta de adultos. Foi ainda avaliada, em campo, a validade do modelo de exigências térmicas para as duas espécies. Utilizando-se os resultados obtidos, propôs-se um sistema de criação em larga escala do parasitoide, avaliando-se seu custo de implantação e manutenção. Foram realizadas liberações do parasitoide em diferentes regiões, do estado de São Paulo, ao longo de um ano, para avaliar seu estabelecimento e parasitismo. Verificou-se que brotações de *M. paniculata* com comprimento entre 1,0 a 2,6 cm favorecem a oviposição, e aquelas com tamanho médio de 4,3 são melhores para alimentação. A viabilidade de ovos, de ninfas e total, e a duração da fase de ovo de *D. citri* não foram afetadas pelos hospedeiros, *M. paniculata* e *M. koenigii*; por outro lado, as durações da fase ninfal e total foram maiores em *M. paniculata*, para qual *D. citri* apresenta preferência quando em teste com chance de escolha, não tendo sido verificada diferença em teste sem chance de escolha. A umidade afeta a emergência de *T. radiata* no sistema de coleta proposto e tal sistema permite uma economia de tempo na coleta de parasitoides de até cinco vezes. O fornecimento de alimento para adultos de *T. radiata* não afetou sua longevidade, nem sua capacidade de parasitismo. Os modelos de exigências térmicas estimados para *D. citri* e *T. radiata*, são válidos para temperaturas mais elevadas. Recomenda-se o uso de mudas de *M. paniculata* apenas duas vezes na criação de *D. citri*. O maior custo do sistema é devido à produção de ninfas de *T. radiata* e à mão de obra. *T. radiata* se estabeleceu em todas regiões testadas com boas taxas de redução de ninfas. O parasitismo médio foi inicialmente alto tornando-se variável e foi afetado pela estação do ano.

Palavras-chave: Criação em larga escala; *T. radiata*; HLB; Controle biológico

ABSTRACT

Optimization of rearing methods for *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) and *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) for large-scale production and field establishment of the parasitoid

Control methods for *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) have been intensively researched in recent years, since this insect is considered the most important citrus pest due to its ability to transmit the Huanglongbing (HLB) bacterium. Because no remedy for the disease is yet available, its management is based principally on control of the vector. Biological control using the parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) is providing excellent results in many parts of the world. For efficient utilization of this natural enemy, large-scale production is necessary, which also requires rearing the pest. This study examined some key aspects of rearing these two species, in order to increase their productivity; propose a large-scale production system for the parasitoid, estimating the costs of its implantation and management; and also to evaluate the establishment and efficiency of the parasitoid, released in different citrus-producing areas of São Paulo state. Aspects of rearing *D. citri* related to the branch size of the host [*Murraya paniculata* (L.)] and the feasibility of using an alternative host [*Murraya koenigii* (L.) Sprengel] were evaluated. For *T. radiata*, the effects of supplementary feeding and a new system for collecting adults were investigated. The validity of the thermal-requirements model was evaluated in field conditions for both species. Based on the results obtained, a large-scale rearing system for the parasitoid is proposed, together with an evaluation of its implantation and management costs. Parasitoid releases were conducted, and its performance in different climate zones during one year was evaluated in order to assess its establishment and parasitism efficiency. The results indicated that *M. paniculata* buds sized 1.0 to 2.6 cm are best for egg laying, and buds averaging 4.3 cm are better for feeding. The egg, nymph and total viabilities, and the egg-stage duration of *D. citri* were not affected by the different hosts *M. paniculata* and *M. koenigii*; however, the nymphal stage and the total development duration were longer on *M. paniculata*, for which *D. citri* showed a preference in the free-choice test. No difference was seen in the no-choice test. The humidity affects the emergence of *T. radiata* in the proposed collection system. This system reduces the time required to produce the parasitoid by up to five-fold. The food supply for adults of *T. radiata* did not affect the longevity or parasitism capacity. The estimated thermal-requirement models for *D. citri* and *T. radiata* are valid at higher temperatures. *M. paniculata* seedlings should be used only twice in rearing *D. citri*. The highest cost in the rearing system is due to the production of *T. radiata* nymphs and to labor. *T. radiata* established successfully in all zones tested, with good rates of nymph reduction. The mean parasitism incidence was initially high and then became variable, and was affected by the season of the year.

Keywords: Large-scale production; *T. radiata*; HLB; Biological control

1 INTRODUÇÃO

A citricultura é uma das atividades agrícolas brasileiras com mais alto nível de tecnificação e profissionalismo, fruto do trabalho intenso das Universidades e Centros de Pesquisa, realizado desde o começo do século passado.

Este segmento compreende a produção de laranjas, tangerinas e limões. O Brasil alcançou uma produção de 19,11 milhões de toneladas de laranjas em 2010, representando quase 30% da produção mundial (SALOIS; JAUREGUI; FERREL, 2012). O país é responsável por 50% da produção mundial de suco de laranja, e exporta 98% do que produz, o que representa 85% de participação no mercado mundial (NEVES, 2011).

Em 2004 foi feito o primeiro registro, no estado de São Paulo, de uma nova doença, o greening ou Huanglongbing (HLB) (COLETTA-FILHO et al., 2004), no ano de 2005 ela foi registrada em Minas Gerais e em 2006 no estado do Paraná (MENEQUIN et al., 2008).

O HLB é causado, principalmente, por bactérias do gênero *Candidatus*, sendo atribuído também a alguns outros microrganismos (TEIXEIRA et al., 2008). A infecção pelo agente causador pode ocorrer por meio de enxertia de material contaminado e por ação de dois psílídeos vetores: *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera: Triozidae) e *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) (GRAÇA, 1991).

Esta doença têm sido considerada a pior já enfrentada pelo setor, uma vez que pode inviabilizar pomares produtivos em até quatro anos e pomares em formação nem chegam a produzir.

Uma vez que não existem medidas curativas e ainda não foram descobertos materiais resistentes, o manejo da doença está focado no controle do inseto vetor (GOTTWALD, 2010). Este, têm sido realizado, principalmente, por meio da aplicação, normalmente excessiva, de agroquímicos, tal fato pode levar à sérias consequências, como contaminação ambiental, seleção de populações resistentes e aumento de custos de produção.

Por outro lado, dentro do manejo integrado de pragas (MIP) é preconizada a utilização de diferentes métodos de controle, de forma conjunta, de modo a se alcançar um controle racional e econômico. Dentre os métodos recomendados pelo MIP, está o controle biológico de pragas.

O mais promissor agente de controle biológico de *D. citri* é o parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston, 1922 (Hymenoptera: Eulophidae).

Este himenóptero parasitoide coloca o ovo no corpo das ninfas do psílídeo, sua larva passa a se alimentar da ninfa, matando-a. Sua utilização para controle de *D. citri* tem se mostrado promissora em diversas regiões ao redor do mundo, incluindo resultados preliminares no Brasil.

O sucesso da utilização do controle biológico depende, dentre outros fatores, do amplo conhecimento dos aspectos biológicos, bem como, do domínio da técnica de criação das espécies envolvidas (PARRA et al., 2002).

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar algumas características do psílídeo *D. citri* e seu parasitoide *T. radiata* que afetam diretamente sua produção; estabelecer uma criação em larga escala das duas espécies, estimando sua viabilidade econômica e também avaliar o estabelecimento e a eficiência do parasitoide em campo, visando determinar parâmetros para sua utilização no manejo integrado de pragas do citros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Huanglongbing (HLB) ou Greening

2.1.1 Aspectos gerais e sintomas

O HLB é a maior preocupação do setor citrícola atualmente em função da dificuldade de controle e dos prejuízos que vem causando.

O estado de São Paulo teve sua área de produção citrícola reduzida em 20% entre os anos 2000 e 2009 (FNP, 2009). Segundo levantamento da Coordenadoria de Defesa Agropecuária do estado de São Paulo, desde a detecção da doença cerca de 14 milhões de árvores já foram eliminadas como medida legislativa de controle do “greening” (HLB) (CDA, 2012).

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

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

Atualmente considera-se que a doença está presente em praticamente todas as regiões produtoras de *Citrus* no mundo, não tendo sido detectada apenas nos países produtores da região do Mediterrâneo (Figura 1.)

Figura 1 - Mapa de distribuição do Huanglongbing (HLB) ao redor do mundo e os principais países produtores de citros. Adaptado de Kuchment (2013)

Os sintomas da doença surgem de forma setorizada na planta, aparecendo em determinado ramo ou galho. A parte afetada apresenta em suas folhas um mosqueado irregular entre os lados separados pela nervura central e pode ocorrer ainda clorose internerval. Com a evolução da doença, ocorre desfolha das partes afetadas e morte do ponteiro (KIMATI et al., 2005).

Os sintomas observados devem-se à reação da planta à infecção pela bactéria, que provoca a deposição de calose nos plasmodesmos e elementos de tubo crivado obstruindo-os. Deste modo, o transporte de fotoassimilados para as diversas partes da planta é comprometido (GONZALES; REYES-DE-CORCUERA; ETXEBERRIA, 2012; KOH et al., 2012). Foi observado ainda que a membrana da parede celular torna-se deformada e de menor espessura quando a planta está infectada pela bactéria (SHOKROLLAH et al., 2010), e que a severidade dos sintomas possui grande relação com a concentração da bactéria nos tecidos da planta infectada (STOVER; McCOLLUM, 2011).

Frutos de plantas infectadas, desenvolvem-se de forma irregular e acabam tornando-se menores, deformados e assimétricos, com coloração desigual e maturação irregular, podendo ocorrer o aborto das sementes ou seu incompleto desenvolvimento (ROSALES; BURNS, 2011); tais características foram atribuídas à presença da bactéria, que promove uma alteração na concentração e distribuição dos principais fitohormônios responsáveis pela maturação dos frutos.

Por muito tempo, os sintomas da infecção por HLB foram atribuídos à deficiências minerais, especialmente zinco (Zn), tal fato foi esclarecido por Masaoka et al. (2011) que verificaram que plantas doentes apresentavam em média metade da concentração de zinco e ferro nos tecidos em comparação com plantas sadias.

Plantas novas e contaminadas não chegam a produzir frutos, plantas adultas tornam-se improdutivas em dois a cinco anos após a infecção, seus frutos apresentam menor teor de sólidos solúveis e maior acidez, o que compromete o rendimento do produto na industrialização. Plantas que possuam sintomas em mais de 60% da copa apresentam uma redução média de 70% no peso e no número de frutos produzidos (FUNDECITRUS, 2009).

Segundo Bassanezi et al. (2011) existe uma relação direta entre a severidade da doença e a redução na produtividade das plantas infectadas, sendo que, frutos sintomáticos apresentaram, em média, peso menor do que aqueles que se mostravam sadios. A avaliação de nove variáveis que caracterizam a qualidade de

frutos, mostrou que todas elas são prejudicadas na presença da doença (BASSANEZI; MONTESINO; STUCHI, 2009).

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

2.1.2 Agentes Causais

De acordo com Graça (1991) o HLB já estava presente na Índia e China no século XVIII sem causar maiores danos. A partir da década de 20 foram divulgados novos relatos da doença no sudeste asiático já causando danos econômicos importantes. Naquela época, os danos foram atribuídos a diversas causas, incluindo falta de drenagem, presença de nematoides e principalmente a deficiências minerais.

Até os anos 70, acreditava-se que o agente causal fosse o vírus da tristeza dos citrus, devido à capacidade de transmissão via enxerto. Estudos posteriores, entretanto, não confirmaram esta hipótese (GRAÇA, 1991). Embora não possa ser cultivada em meio artificial, o que contemplaria os postulados de Koch, assumiu-se que o agente causal era uma bactéria frente a fortes evidências, principalmente a redução dos sintomas quando se administravam antibióticos a plantas doentes.

Por meio de estudos de sequenciamento genômico, Jagoueix et al. (1994) descreveram então duas espécies responsáveis pelo HLB, *Candidatus Liberibacter asiaticus* que é o agente causal no sudeste asiático e nas ilhas da região e *Candidatus Liberibacter africanus*, único responsável pela doença no continente africano (PIETERSEN et al., 2010).

No Brasil o HLB foi identificado pela primeira vez em pomares de laranja na região de Araraquara. As análises deste primeiro registro mostraram que o agente causal era *C. Liberibacter asiaticus* (COLETTA-FILHO et al., 2004).

Coletta-Filho et al. (2005) realizaram estudos comparando da região 16S do DNA ribossomal dos dois tipos de bactérias conhecidas com uma nova espécie, confirmando-se assim a existência de mais um agente causal do HLB, que foi denominado *Candidatus Liberibacter americanus* (TEIXEIRA et al., 2005) Naquele ano, os autores verificaram que esta espécie de bactéria estava amplamente

disseminada, correspondendo a 98% das amostras analisadas, que apresentavam sintomas da doença.

No começo de 2007 plantas sintomáticas foram negativas em testes de detecção para as três espécies de *Ca. Liberibacter*. Deste modo, mais uma vez utilizando-se 16S rDNA foi identificado um novo causador do HLB, um fitoplasma que é 99% semelhante ao agente causador da vassoura de bruxa do guandu (TEIXEIRA et al., 2008).

De acordo com Bové (2006) as espécies de *Ca. Liberibacter* respondem de forma diferente às variações na temperatura. *Ca. Liberibacter asiaticus* provoca, de modo geral, sintomas mais severos do que *Ca. Liberibacter africanus*; entretanto, em temperaturas mais amenas (22° - 24°C) os sintomas causados pela espécie africana são mais evidentes. Em uma temperatura variando de 27° a 30°C as plantas infectadas por esta espécie tornam-se assintomáticas. Segundo Gottwald et al. (2007) isto explica o fato de que o HLB africano ocorra em pomares situados em altitudes superiores a 700 m, enquanto a espécie asiática se desenvolve em regiões mais baixas e quentes.

Para as espécies que ocorrem no Brasil, Lopes et al. (2009) também encontraram diferenças. Estes autores verificaram que na mesma faixa de 22° a 24°C todas as plantas infectadas com as duas espécies da bactéria apresentaram sintomas de mosqueamento; entretanto, entre 27° - 32°C nenhuma planta infectada com *Ca. Liberibacter americanus* apresentou sintomas. Tal fato foi também confirmado por Gasparoto et al. (2012), sob condições experimentais; em plantas inoculadas com *Ca. Liberibacter americanus* e mantidas em temperaturas variando de 27° a 30°C não foi verificada a evolução da doença, ao passo que, naquelas que receberam *Ca. Liberibacter asiaticus*, a infecção das plantas foi total ao fim de dois meses.

2.1.3 Hospedeiros

A doença pode afetar diversas espécies da família Rutaceae com sintomas mais evidentes naquelas do gênero *Citrus* e espécies relacionadas (HALBERT; MANJUNATH, 2004).

Plantas do gênero *Murraya*, (algumas das quais, hospedeiras preferenciais do vetor) também são hospedeiras de *Ca. Liberibacter asiaticus* e capazes de transmiti-

lo, por meio do vetor, às plantas de citrus (DAMSTEEGT et al., 2008). A transmissão de *Ca. Liberibacter americanus* de plantas de murta para laranja doce, por meio do vetor foi também confirmada por Gasparoto et al. (2010).

Levantamento realizado em plantas de murta (*Murraya paniculata*), ao longo de dois anos, em dez cidades do estado de São Paulo, demonstrou que cerca de 12% das amostras foram positivas para HLB, com predominância de *Ca. Liberibacter americanus* no primeiro ano e de *Ca. Liberibacter asiaticus* no segundo (LOPES et al., 2010). Em um trabalho semelhante na Florida, EUA, Walter; Hall e Duan (2012) encontraram apenas 1,8% das plantas infectadas por *Ca. Liberibacter asiaticus*. Apesar da baixa incidência, isto é especialmente grave uma vez que, estas plantas estão frequentemente associadas a pomares de citrus como cerca-viva ou quebra-vento.

2.1.4 Medidas de manejo e controle

Uma vez que não existem medidas curativas para combate da doença, seu manejo se baseia em ações pró-ativas. De acordo com Kimati et al. (2005) o controle do HLB é baseado em três estratégias fundamentais: a utilização de mudas sadias que é garantida por meio de medidas legais pela exigência de produção sob viveiros telados; o controle do vetor com uso de meios químicos e/ou biológicos e a eliminação de plantas doentes dos pomares comerciais.

Não foram ainda encontradas variedades de laranja resistentes à enfermidade, bem como produtos que atuem contra o agente causal (BOVÉ, 2006). Alguns outros materiais do gênero *Citrus*, como limões, cidra e porta enxerto do gênero *Poncirus*, entretanto, têm sido relatados como tolerantes à doença (FOLIMONOVA et al., 2009; ALBRECHT; BOWMAN, 2011; ALBRECHT; BOWMAN, 2012). Outras estratégias também têm sido avaliadas; assim, testando 12 combinações de porta enxerto e copa em condições de campo, Shokrollah et al. (2011) concluíram que três delas podem ser consideradas tolerantes à doença por não desenvolverem sintomas, apesar de possuírem a bactéria.

Embora eficiente para a Clorose Variegada dos Citros (CVC) a poda de ramos sintomáticos não mostrou resultados para o HLB, uma vez que 60% das árvores com ramos eliminados voltaram a apresentar sintomas da doença (LOPES et al., 2007).

Por meio de estudos da proporção de plantas sintomáticas para aquelas que ainda não manifestaram os sinais da doença, presentes nos pomares de produção, foi determinado que quando 28% das árvores cítricas já apresentavam sintomas, era esperado que todas as demais já estivessem infectadas com a doença, como consequência, foi criada a instrução normativa 53 que determina a eliminação completa do talhão no qual 28% das plantas já sejam sintomáticas (BELASQUE JR et al., 2009)

O controle bem sucedido do HLB pode ser alcançado por meio de diferentes níveis de manejo (mais ou menos intensivos) em função de algumas características da área produtora. A incidência da doença na região, a taxa de infecção inicial, distância de áreas não manejadas, tamanho da fazenda e idade do pomar são aspectos fundamentais que irão determinar o nível de manejo a ser adotado, o que implica diretamente no custo do controle da doença (BELASQUE JR et al., 2010). Segundo Leal et al. (2010) inspeções trimestrais não são suficientes para monitorar a doença e conseqüentemente, alcançar um controle satisfatório.

De acordo com Belasque Jr. et al. (2010), algumas características são fundamentais no manejo do HLB. Sua presença ou não pode conduzir diretamente ao sucesso ou fracasso no controle da doença. Dentre estas características, está a presença de áreas com pomares abandonados, distantes, pelo menos quatro quilômetros das áreas produtivas. Estas áreas servem como fonte de inóculo para produção de psílídeos infectivos que podem migrar disseminando a doença e comprometendo seu controle. Tal fato foi também observado por Tiwari et al. (2010) em sete conjuntos de pomares manejados e abandonados distantes cerca de 100 metros entre si.

Entre as ações para um manejo eficiente do HLB está a detecção precoce de árvores infectadas, uma vez que, os primeiros sintomas podem aparecer somente seis meses após a infecção. Algumas alternativas têm se mostrado promissoras por meio do uso de sensores óticos que são capazes de identificar plantas doentes já no primeiro mês após aquisição da bactéria (PEREIRA et al., 2011) ou ainda que podem ser levados aos pomar, realizando o trabalho no local com grau de confiabilidade de mais de 90% (SANKARAN et al., 2011).

2.1.5 Transmissão

A transmissão via sementes não foi verificada, avaliando-se mudas advindas de sementes provenientes de frutos sintomáticos e confirmados para HLB por três anos, Hartung et al. (2010) não observaram o desenvolvimento de sintomas em nenhuma amostra, bem como, todas foram negativas em testes para confirmação da presença da bactéria.

A importância da infecção via enxertia foi evidenciada pelo trabalho de Lopes et al. (2008), no qual os pesquisadores testaram a eficiência de transmissão das duas espécies de bactéria que ocorrem no Brasil. Eles verificaram que a taxa de infecção para *Ca. Liberibacter asiaticus* variou de 54,7% até 88%, e para *Ca. Liberibacter americanus* foi de 10% até 45,2%

Segundo Graça (1991) o HLB pode ser transmitido por meio de enxertia com material contaminado, de plantas parasitas do gênero *Cuscuta* e por ação de dois insetos vetores, *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera: Triozidae) e *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae). O psílídeo *Cacopsylla (Psylla) citrisuga* Yang & Li (Hemiptera: Psyllidae) foi confirmado como hospedeiro de *Ca. Liberibacter asiaticus*, embora ainda não tenha sido verificada sua capacidade de transmiti-la (CEN et al., 2012).

T. erytreae é responsável pela transmissão da bactéria no continente africano e *D. citri* nas demais regiões afetada pela doenças ao redor do mundo. Assim como o agente causal, o vetor associado a ele também possui a biologia de acordo com variações da temperatura; assim, *D. citri* é considerado adaptado a regiões de clima quente e *T. erytreae* a regiões de clima mais ameno (GOTTWALD et al., 2007).

2.2 *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)

2.2.1 Aspectos gerais e biologia de *D. citri*

Dentre os vetores de HLB conhecidos, *D. citri* é sem dúvida o mais importante devido a sua distribuição e características biológicas (BOVÉ, 2006). Este inseto, antes pertencente a família Psyllidae, em função de novos estudos foi recentemente transferido para família Liviidae (BURCKHADT; OUVRARD, 2012).

Os adultos deste espécie medem entre 2,8 e 3,2 mm de comprimento, seu corpo é marrom claro quando jovens, tornando-se mais escuro posteriormente. Eles

se tornam muito ativos e movimentam-se saltando rapidamente quando perturbados. (GALLO et al., 2002).

A fase ninfal apresenta cinco ínstaes, sendo que as ninfas possuem coloração amarelada e seu tamanho varia de 0,25 a 1,5 mm do primeiro ao quinto instar, respectivamente (PANDE, 1971). Tais formas jovens são praticamente imóveis, e permanecem aderidas à tecidos novos como folhas e brotações que são mais tenros e fáceis de serem sugados.

De acordo com Gallo et al. (2002) *D. citri* secreta uma substância cerosa semelhante ao “honeydew”, o que permite uma fácil localização das ninfas na planta devido à sua deposição que pode também causar o aparecimento de fumagina.

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

Avaliando em condições de campo, Pande (1971) verificou que, nos meses mais quentes, o ciclo biológico apresenta um duração de 10 a 15 dias e nos meses mais frios de 18 a 30°C, resultados semelhantes foram obtidos por Paiva e Parra (2012) que avaliando também em condições de campo, verificaram um ciclo biológico de 18,0 a 24,7 dias, considerando-se temperaturas médias de 21,6° a 26°C.

O efeito da temperatura sobre *D. citri* também foi testado por Nakata (2006) sobre murta (*M. paniculata*) na faixa de 15° a 32,5°C. O desenvolvimento foi acelerado com o aumento da temperatura até 30°C; a 32,5°C foi registrado um aumento na duração bem como mortalidade elevada dos três últimos ínstaes, de até 83,3%. A 15°C houve mortalidade de todas as ninfas de 5° instar.

Avaliando o desenvolvimento sobre duas espécies de citros (*Citrus limonia* e *C. sinensis*) e sobre murta (*M. paniculata*), foi observado que a duração da fase de ovo variou de 8,2 a 2,6 dias nas temperaturas entre 18° e 32°C. Para a fase ninfal a variação foi de 39,3 a 10,7 dias na faixa de 18° a 30°C (NAVA et al., 2007). De acordo com Fonseca; Valera e Vásquez (2007) o ciclo biológico de *D.citri* varia de 13,5 a 15,0 dias em plantas de *C. grandis* e *M. paniculata* respectivamente.

Em campo, sobre plantas de citros, Pande (1971) registrou uma duração da fase de ovo de 4 a 6 dias em condições mais frias e 8 a 18 dias em condições mais quentes.

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

A temperatura afeta também a oviposição. De acordo com Liu e Tsai (2000) o número de ovos aumenta com o aumento da temperatura alcançando 748 ovos a 28°C. Segundo Yang et al. (2006) a oviposição pode alcançar 1900 ovos. Nava et al. (2007) registraram uma média de 348,4 ovos quando o hospedeiro foi murta; este valor é bem menor do que o registrado por Liu e Tsai (2000) para esta planta, que foi de 626 ovos; os autores atribuíram esta diferença à qualidade das plantas utilizadas no estudo e das diferentes técnicas de criação utilizadas.

A fertilidade é também afetada pela ocorrência de múltiplos acasalamentos; assim, fêmeas que podem copular com mais de um macho produzem um maior número de ovos, embora, esta condição reduza sua longevidade (WENNINGER; HALL, 2008).

Em avaliação por um período de 48 horas, Hall; Wenninger e Hentz (2011) verificaram oviposição de *D. citri* entre 17° e 41°C. Este autores ainda avaliaram a resistência de ovos a curtos períodos de baixas temperaturas e concluíram que a viabilidade começa a ser afetada pela temperatura de -3°C por mais de seis horas, sendo que, a -5,1°C, pelo mesmo período, ocorre inviabilização total dos mesmos.

Pande (1971) encontrou valores de oviposição de *D. citri* variando de 180 a 520 ovos e que mais de 60% são colocados em gemas foliares ou brotações que ainda não se expandiram por completo.

Segundo Grafton-Cardwell; Stelinski; Stansly (2013) o psíldeo é nativo do sudeste asiático, e atualmente encontra-se distribuído por toda Ásia tropical e subtropical, alguns países do oriente médio e ilhas Maurício. O primeiro registro de *D. citri* no continente americano ocorreu no Brasil em 1942. (COSTA LIMA, 1942). O registro posterior só ocorreu em 1997 na Argentina, sendo confirmada sua presença a partir daí seguidamente por todo Caribe, encontrado na Flórida em 1998 e Texas em 2001 (PARRA et al., 2010).

Caracterizando populações amostradas em diferentes pontos do continente americano e Havaí foi possível separar, por meio de marcadores moleculares, duas populações distintas, uma da América do sul e outra da América do norte e Havaí. Isto significa que ocorreram duas introduções de *D. citri* na América providas de origens distintas (LEÓN et al., 2011).

A pouca atenção recebida ao longo de quase 60 anos desde o primeiro registro se deve provavelmente à ausência do HLB no continente que só foi verificada em 2004 no Brasil e EUA em 2005 (BOVÉ, 2006).

2.2.2 Comportamento alimentar de *D. citri*

De acordo com Skelley e Hoy (2004), o psílídeo prefere se alimentar em ramos bem novos e brotações; segundo Uechi e Iwanami (2012), a alimentação de psílídeos recém emergidos em gemas e ramos tenros é fundamental para maturação dos ovários, uma vez que, em cinco dias alimentando-se em ramos novos, 79,5% das fêmeas já apresentavam os ovários maduros contra apenas 2,5% daquelas que se alimentaram em ramos mais velhos; aos sete dias, a maturação alcançou 88,4 e 33,3% em ramos novos e velhos respectivamente.

A relação do psílídeo com brotações novas foi também observada por Yamamoto; Paiva e Gravena (2001), nos pomares cítricos do estado de São Paulo. Os autores atribuíram surtos populacionais de *D. citri* à disponibilidade de ramos novos para alimentação e oviposição

Avaliando diferentes tamanhos de brotação disponíveis para oviposição, Teck et al. (2011) verificaram que mais de 80% dos ovos foram colocados em brotações com 3 a 10 mm de comprimento. Na ausência de brotações, a oviposição pode cessar temporariamente (LIU; TSAI, 2000).

A preferência pelo tipo de ramo foi estudada por Bonani (2009), por meio de Electrical Penetration Graph (EPG), e foi verificado que ao final de 5 horas de avaliação, 50% dos psílídeo testados em folhas novas haviam atingido os vasos do floema e estavam efetivamente se alimentando, enquanto em folhas maduras esse percentual foi de apenas 15%. Aquele autor ainda ressaltou a importância deste fato em relação à capacidade de transmissão, uma vez que, a taxa de infectividade de adultos de *D. citri* pela bactéria foi superior quando se alimentaram em folhas novas.

Ao longo de um ano de avaliação, Chong; Roda e Mannion (2010), concluíram que a flutuação populacional de ninfas do psílídeo não estava relacionada à fatores ambientais (vento, precipitação pluviométrica, umidade relativa e temperatura), estando apenas relacionada à presença de novas brotações. Os autores recomendaram o estabelecimento de uma estratégia de controle baseada neste fator da planta hospedeira.

Plantas de citros submetidas à estresse térmico se mostraram significativamente mais atraentes para *D. citri* do que o controle. Em condições experimentais 70% dos psílídeos liberados preferiram as plantas que passaram uma semana a baixas temperaturas (6,1°C), em relação ao controle, mantido no mesmo período a 28°C. Os autores atribuíram o fato ao aumento de concentração de compostos nitrogenados e redução de compostos polifenólicos na planta (MALIK et al., 2012).

2.2.3 Dispersão de *D.citri*

Kobori; Nakata e Ohto (2011) verificaram que *D. citri* começa a se dispersar para outras árvores em 4-5 dias após sua emergência e que a presença de ramos novos estimula sua dispersão; aqueles autores acreditam que o psílídeo não seleciona hospedeiros a longas distâncias e, este tipo de movimento ocorreria ao acaso.

A capacidade de dispersão do psílídeo é tida como baixa. Em condições experimentais, foi verificado que a liberação de 10.000 indivíduos promove migração a uma distância média de 5 a 6 metros do ponto de origem. Quando liberados apenas 1.000 indivíduos esta distância foi de 5 a 12 metros em 20 dias de avaliação (KOBORI et al., 2010). Os autores concluíram que *D. citri* se move muito pouco a partir do hospedeiro que está colonizando e que sua dispersão seria devido, na maior parte à ação, do vento.

Avaliando a dispersão entre pomares ao longo de 12 meses, Hall e Hentz (2011) verificaram que *D.citri* se movimenta em todas as épocas do ano, havendo, no entanto, uma maior atividade durante a primavera. O maior número de insetos foi capturado a dois metros de sua origem e a um metro acima da copa das árvores. Não houve diferença na migração entre machos e fêmeas.

A influência da luz sobre a atividade de migração também foi avaliada, por meio do uso de armadilhas adesivas, Sétamou et al. (2012) verificaram que a captura de insetos durante o dia é cerca de 3 a 4 vezes maior que a noite, e que isto também varia ao longo do dia, sendo o pico registrado entre 12:00 e 15:00 horas, ou seja, o período de maior radiação luminosa.

Outra forma de movimentação de *D. citri* é por meio das atividades humanas, Halbert et al. (2010) avaliando caminhões carregados, conduzindo frutas do campo para indústria de processamento, verificaram a presença do psíldeo, ainda que, em pequena quantidade, em todas as amostras tomadas. Tal fato se torna possível em função da capacidade de sobrevivência do psíldeo em frutos e folhas destacadas que foi de até 13 dias quando mantidos a 25°C (HALL; McCOLLUM, 2011).

2.2.4 Hospedeiros de *D. citri*

De acordo com Halbert e Manjunath (2004) os hospedeiros de *D. citri* incluem 25 gêneros da família Rutaceae (principalmente *Citropsis*, *Citrus* e *Murraya*), embora nem todos permitam o completo desenvolvimento do inseto. Segundo Aubert (1987) dentre os hospedeiros preferidos estão 21 espécies do gênero *Murraya*, e destas, muitas são atrativas para oviposição, apesar de não permitirem o desenvolvimento ninfal. Murta (*M. paniculata*) é tida como hospedeiro preferencial de *D. citri* (LIU; TSAI, 2000; IKEDA; ASHIHARA, 2008), uma vez que proporciona melhores parâmetros biológicos quando comparada com outras espécies.

Dentre 87 materiais vegetais, relacionados diretamente a citros, testados para o desenvolvimento de *D. citri*, apenas um (*Casimiroa edulis*) foi totalmente inadequado tanto para ovos, ninfas ou adultos; uma inadequação média ao desenvolvimento do psíldeo foi verificada em duas variedades de *Poncirus trifoliata*. Assim, estes materiais podem servir para pesquisas de melhoramento de citrus visando a resistência parcial a *D. citri*. (WESTBROOK et al., 2011).

2.2.5 Danos provocados por *D. citri*

Segundo Gallo et al. (2002) os danos diretos causados pelo psíldeo são aqueles típicos de insetos sugadores. Em função da inoculação de substâncias

tóxicas durante a sucção da seiva, as folhas se enrolam e as brotações tornam-se retorcidas e engruvinhadas, impedindo o crescimento normal da planta.

Sob infestações intensas os ramos podem secar, podendo ainda haver o surgimento de fumagina, devido à deposição da secreção açucarada. Embora possuam preferência por ramos novos, os insetos podem, na ausência destes, alimentarem-se de folhas e ramos maduros (Aubert, 1987).

Sua gravidade, entretanto, está relacionada ao seu dano indireto que é a capacidade de transmitir os agentes causadores do HLB.

2.2.6 Transmissão de agentes causadores do HLB

Maiores detalhes sobre os mecanismos de transmissão da bactéria por *D. citri* ainda precisam ser esclarecidos (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Por outro lado, é sabido que um inseto adulto e sadio alimentando-se em plantas infectadas pode adquirir o patógeno em 30 minutos; segue-se então um período de latência de cerca de 20 dias, no qual a bactéria se multiplica e se difunde pelos tecidos do inseto, alcançando o canal salivar (ROGERS; STANSLY, 2009).

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

Outros aspectos relevantes da capacidade de aquisição e transmissão do patógeno foram mostrados por Inoue et al. (2009). Estes autores acompanharam o aumento da concentração da bactéria no corpo do inseto em função da época de aquisição. Eles verificaram que a concentração não aumenta quando o inseto adquire a bactéria no estágio adulto e assim ele não foi capaz de transmiti-la para mudas de citros. Por outro lado, quando a aquisição ocorreu na fase de ninfa, a concentração aumentou em até 360 vezes do número inicial de infecção e quando esses indivíduos tornaram-se adultos sua capacidade de transmissão para plantas de citros foi de até 67%.

A maior eficiência de ninfas em relação à adultos foi também comprovada por Pelz-Stelinski et al. (2010), os quais observaram que por um período de cinco semanas, de 60 a 100% das ninfas haviam adquirido a bactéria, ao passo que, para

adultos essa taxa foi de apenas 40%. Foi constatada também, embora reduzida, a transmissão transovariana de cerca de 2 a 6%.

Mann et al. (2011) comprovaram a transmissão, ainda que a uma baixa taxa (4%), de machos para fêmeas de *D. citri*, pois a bactéria foi detectada na genitália de ambos dos sexos, embora a transmissão de fêmeas para machos não tenha sido observada.

Segundo Cen et al. (2012), o tempo utilizado em alimentação efetiva no floema se reduz à medida que aumenta a severidade dos sintomas de HLB na planta testada. A progressão da doença causa alterações no floema tornando-o menos adequado para os insetos e de acordo com os autores, o menor tempo gasto em uma planta altamente infectada pode contribuir para a disseminação da doença.

Foi observada uma preferência de machos e fêmeas do psíldeo (64 e 79% respectivamente quando comparado com planta sadia) por plantas de citrus infectadas com HLB. Tal fato se deve à presença de compostos voláteis emitidos pela planta doente, uma vez que, os testes foram conduzidos em olfatômetro, no qual, os insetos não tiveram contato visual com as plantas (NORONHA, 2010).

2.2.7 Métodos de manejo e controle

Diversos estudos têm sido realizados avaliando métodos de controle de *D. citri*. O manejo mais realizado é ainda baseado principalmente em inseticidas químicos.

Existem registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) vinte produtos para o controle do psíldeo na cultura dos citros e que pertencem a apenas cinco grupos químicos (AGROFIT, 2012). A pequena variação de produtos disponíveis é preocupante uma vez que pode conduzir à rápida seleção de populações resistentes do psíldeo.

Foi verificado por Carvalho (2008) diferenças significativas em relação à suscetibilidade de populações de *D. citri* entre inseticidas neonicotinóides. Avaliando a suscetibilidade de populações de *D. citri* da Flórida, EUA, foram confirmados diferentes níveis de resistência de adultos e ninfas a cinco e quatro produtos respectivamente (TIWARI et al., 2011).

A gravidade da doença, bem como, a carência de outros métodos de manejo, tem conduzido os produtores à aplicação excessiva de inseticidas, sendo registrado

que alguns citricultores realizam até 42 aplicações anuais de agroquímicos para o controle de *D. citri*. Tal fato torna ainda mais preocupante a possibilidade de seleção de populações resistentes.

De acordo com Ichinose et al. (2010), para pomares em formação, a aplicação dos principais inseticidas recomendados foi efetiva no controle do psílideo apenas no primeiro mês e que a utilização de adjuvantes não promoveu nenhum efeito na mortalidade de *D. citri*.

A aplicação de inseticidas de largo espectro na fase de repouso vegetativo das plantas de citrus, e portanto, período de menor população de *D. citri*, conduziu à uma redução de 10 a 15 vezes na quantidade de insetos adultos, por seis meses em média quanto comparado ao controle sem aplicação (QURESHI; STANSLY, 2010); essa forma de aplicação tem levado a bons resultados, assim como, o manejo regional, no qual, produtores de uma mesma região se associam para realizar a pulverização numa mesma época.

Uma alternativa é o uso de produtos naturais. Avaliando diferentes extratos botânicos, Shivankar et al. (2000) obtiveram taxas de controle de até 90%, utilizando inclusive formulações à base de nim. Avaliando também este produto, Weathersbee e Mckenzie (2005) não verificaram diferença de oviposição em relação ao controle; no entanto, ocorreu efeito sobre a sobrevivência de ninfas, havendo reduções de até 92%.

Estudos com uso de entomopatógenos também têm sido conduzidos. Em condições de campo foi verificado que sob altas umidades (87% - 90%), houve mortalidade de ninfas de até 70% relacionada à ocorrência de epizootias por fungos (AUBERT, 1987). No ano de 2005, um entomopatógeno causou de forma espontânea grande mortalidade de *D. citri* em pomares da Flórida, sendo identificado posteriormente como *Isaria fumosorosea* (MEYER et al., 2008).

Testando diferentes isolados Padulla e Alves (2009) verificaram que a maior mortalidade foi proporcionada por aqueles do gênero *Beauveria*, alcançando mais de 70% de controle. Os autores relataram ainda que o fungo altera a fisiologia do inseto impedindo sua metamorfose e que, superando as defesas do psílideo, ele abre uma porta para entrada de outros entomopatógenos oportunistas que podem matar o inseto.

Uma outra alternativa para o manejo de *D. citri* e consequentemente do HLB, seria o interplantio de goiabeiras em pomares de citrus. Tal proposta se deve ao

observado no Vietnã, onde pomares com presença de goiabeiras apresentavam menores populações do psíldeo, bem como menor incidência da doença (GOTTWALD et al., 2010).

Esta possibilidade foi explicada por Zaka et al. (2010) e Noronha (2010), os quais verificaram que a goiabeira emite voláteis que exercem ação repelente ao psíldeo. Entretanto, tal estratégia se mostrou eficiente apenas no primeiro ano de intercultivo, pois após dois anos de avaliação, a taxa de infecção por HLB se mostrou semelhante em pomares com e sem a presença das goiabeiras (ICHINOSE et al., 2012).

2.2.8 Controle biológico de *D. citri*

Diversos agentes entomófagos também controlam *D. citri*. De acordo com Michaud (2004) os predadores mais importantes desta praga na Flórida são as joaninhas *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) (Coleoptera: Coccinellidae), *Olla v-nigrum* (Mulsant, 1866) (Coleoptera: Coccinellidae), *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae), e *Exochomus childreni* Mulsant, 1850 (Coleoptera: Coccinellidae). Em Taiwan, *Chrysopa boninensis* Okamoto, 1914 (Neuropetera: Chrysopidae) e *Menochilus sexmaculatus* (Fabricius, 1781) (Coleoptera: Coccinellidae) são os mais relevantes (Chien; Chiu, 1996).

Em levantamento realizado em Porto Rico, foi observado uma série de coccinelídeos associados a populações de ninfas de *D. citri*. Entretanto em testes de laboratório, foi verificado que algumas espécies têm preferência pelo pulgão preto do citros *Toxoptera citricida* (Kirkaldy, 1908) (Hemiptera: Aphididae), quando em testes com chance de escolha (PLUKE et al., 2005).

Segundo Qureshi e Stansly (2011), o coccinelídeo *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, 1842 (Coleoptera: Coccinellidae) já vem sendo liberado em pomares na Flórida, EUA para controle de *D. citri*. Em testes de laboratório, foi verificado que larvas deste predador têm preferência pelo psíldeo quando comparado com dois outros tipos de presa; no entanto, esta preferência não foi verificada quando utilizados adultos do predador.

Avaliando-se cercas-vivas de murta (*M. paniculata*) ao longo de um ano, Chong; Roda e Mannion (2010) verificaram que os principais predadores associados a *D. citri* foram aranhas, coccinelídeos e sirfídeos, bem como a presença de

parasitismo devido à ação de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae).

Outra espécie com potencial para controle do psilídeo é o ácaro *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae), pois este inimigo natural promoveu uma redução de ovos e ninfas de 1º instar de *D. citri* seis vezes maior que o controle. A contagem de adultos emergentes ao longo de oito semanas foi 80% menor quando utilizados os ácaros (JUAN-BLASCO et al., 2012). Foi também registrada, no México ao longo de três anos, a presença de uma vespa predadora, *Brachygastra mellifica* (Say 1837) (Vespidae: Polistinae), atacando ninfas de 4º e 5º instares do psilídeo; e por meio do monitoramento com câmera, os autores observaram que ela pode consumir até 31 ninfas em um período de 16 minutos (REYES-ROSAS et al., 2011).

Dentre os parasitóides, são relatadas duas importantes espécies associadas ao psilídeo do citros. *T. radiata* que é um ectoparasitóide idiobionte e o endoparasitóide *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shaffe, Alam e Agarwald, 1975) (Hymenoptera: Encyrtidae) (HALBERT; MANJUNATH, 2004). Os autores relatam que *T. radiata* vem demonstrando ser mais eficiente para o controle de *D. citri* que *D. aligarhensis*. Em levantamento conduzido na ilha Reunião (departamento ultramarino Francês) foi verificado que o primeiro alcançou um parasitismo de 70% em ninfas do psilídeo enquanto que o parasitismo promovido por *D. aligarhensis* não chegou a 20% (AUBERT, 1987).

2.3 *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)

T. radiata é um ectoparasitóide idiobionte nativo da Índia e específico de *D. citri*, (CHIEN, 1995). O adultos são pequenos himenópteros de coloração escura medindo de 0,92 a 1,04 mm de comprimento, com asas hialinas e com venação amarelada; o dimorfismo sexual é facilmente observado, pois machos são menores que as fêmeas, tanto no comprimento quanto na envergadura das asas, porém suas antenas são cerca de 1,5 x maiores (ONAGBOLA et al., 2009).

Estudo realizado por Gomez-Torres (2009) verificou uma variação cromática entre diferentes populações de *T. radiata*, mas, aquele autor concluiu que se tratavam de adaptações ao ambiente e portanto, pertenciam à mesma espécie.

As fêmeas do parasitoide colocam geralmente um, no máximo dois ovos na face ventral das ninfas do psilídeo entre o terceiro par de pernas, mas, somente uma

larva se desenvolve; uma vez eclodida, a larva passa a se alimentar da hemolinfa do hospedeiro e, ao final desta fase, ela adere os restos da ninfa à planta para criar uma proteção sob a qual possa pupar (HOY; NGUYEN; JEYAPRAKASH, 2012).

A medida que o parasitoide se desenvolve, a ninfa do psíldeo se torna escura, e seca ao final do desenvolvimento, o adulto de *T. radiata* perfura a região anterior da ninfa, criando uma abertura para emergir. Tais características permitem uma fácil identificação das ninfas que foram parasitadas (ETIENNE et al., 2001), bem como, uma diferenciação daquelas ninfas atacadas por *D. aligarhensis*, uma vez que os adultos deste parasitoide emergem pela região posterior das mesmas.

T. radiata pode se alimentar de ninfas de 1º a 3º ínstaes e ovos, e suas fêmeas parasitam preferencialmente ninfas de 4º e 5º ínstaes conforme registrado por Chu e Chien (1991) que obtiveram valores de parasitismo de 71,1 e 85,2% respectivamente e corroborado por Gomez-Torres (2009) a qual registrou parasitismo de 61,25 e 88,75% para aqueles ínstaes.

Devido à atuação conjunta de alimentação e parasitismo, acredita-se que uma única fêmea do parasitoide pode ao longo de sua vida eliminar até 500 ninfas do psíldeo (CHIEN; CHU, 1996). Segundo Hoy; Nguyen e Jeyaprakash (2012), a alimentação das fases iniciais de *D. citri* representa uma importante fonte proteica para a maturação dos ovos do parasitoide.

Testando parâmetros biológicos de *T. radiata* em diferentes faixas de temperatura Gomez-Torres; Nava e Parra (2012) verificaram que o tempo médio de desenvolvimento biológico variou entre 17,33 a 7,60 dias numa faixa de temperatura de 15º a 35ºC para fêmeas; para os machos, o tempo foi de 15,33 a 6,63 dias nas mesmas temperaturas, significativamente diferentes dos valores registrados para as fêmeas. A razão sexual não foi afetada pela temperatura.

De acordo com Fauvergue e Quilici (1991) a longevidade média do parasitoide variou de 37 a 8 dias em uma faixa de temperatura de 20º a 37ºC, respectivamente, sendo que o tempo de vida de machos é ligeiramente menor que aquele registrado para fêmeas. A longevidade pode ainda ser afetada pela suplementação alimentar de adultos. Quando alimentados com mel puro, ou solução aquosa de mel a 50%, foi verificado que *T. radiata* viveu 24 e 21 dias respectivamente, por outro lado, quando fornecida somente água, a longevidade caiu para apenas 2,1 dias em média.

Por outro lado, diante da presença de hospedeiros, uma vez que *T. radiata* também atua como predador, a suplementação não influenciou na longevidade, de acordo com Chien; Chu e Ku (1994) não foi registrada diferença significativa na longevidade quando fornecidos mel e levedura, mel e pólen ou água na presença de ninfas do psílideo.

A suplementação alimentar de *T. radiata* também afetou o seu parasitismo, segundo Camargo; Gomez-Torres e Parra (2007), o fornecimento de mistura de mel e pólen, para fêmeas recém emergidas, promoveu um parasitismo três vezes maior do que quando não foi fornecido nenhum tipo de alimento

Avaliando a sobrevivência de *T. radiata* e *D. citri* em diferentes temperatura e umidades, McFarland e Hoy (2001) verificaram que o psílideo é mais resistente que *T. radiata* a condições adversas (alta temperatura e baixa umidade); isto poderia explicar a baixa eficiência do parasitoide em algumas regiões, bem como orientar aspectos do seu zoneamento.

As maiores taxas de parasitismo foram obtidas a 25° e 30°C (84,17 e 72,50% respectivamente). Foram também nestas temperaturas que se registraram as maiores porcentagens de emergência (86,49 e 88,41%) (GOMEZ-TORRES; NAVA; PARRA, 2012). Ainda considerando tais temperaturas, aqueles autores verificaram que a capacidade de parasitismo total de *T. radiata* variou de 20 até 167,42 ninfas parasitadas por fêmea, sendo o menor valor na temperatura de 15°C e o maior na temperatura de 25°C.

Segundo Quilici; Joulain e Maninkon (1992) a faixa mais favorável ao parasitismo varia de 25 a 30°C, temperaturas nas quais foram obtidas 115 e 230 ninfas parasitadas respectivamente e ainda segundo estes autores as temperaturas de 20 e 35°C são prejudiciais, uma vez que eles registraram uma média de apenas 30 ninfas parasitadas nestas condições térmicas.

De acordo com Chu e Chien (1991) mediante o fornecimento de alimento para fêmea do parasitoide, a fecundidade pode variar de 98 a 156 ovos por fêmea. Nesta mesma condição, foi registrado que uma fêmea pode parasitar entre 166 e 300 ninfas (CHIEN; CHIU; KU, 2001).

O potencial de *T. radiata* para o controle do psílideo despertou seu interesse, assim como, aumentaram os estudos acerca deste inimigo natural. O parasitoide foi registrado na Arábia Saudita (QING, 1990), Nepal (LAMA; REGMI; AUBERT, 1988), Indonésia (NURHADI, 1989), Tailândia (QING, 1990), Brasil (GOMEZ-TORRES, et

al., 2006) Argentina (LIZONDO et al., 2007), Venezuela (CERMELI, 2007), Porto Rico (PLUKE; QURESHI; STANSLY, 2008), Colômbia (EBRATT-RAVELO, 2011).

Uma vez que os resultados naqueles locais onde foi registrado se mostravam promissores, *T. radiata* passou a ser introduzido em outras regiões do mundo; ilha Reunião (ETIENNE; AUBERT, 1980), ilhas Maurício (QING, 1990), Taiwan (CHIU; AUBERT; CHIEN, 1988), Filipinas (GAVARRA; MERCADO; GONZALES, 1990), ilha Guadalupe (ETIENNE et al., 2001) e EUA (MICHAUD, 2004), México e Costa Rica (QURESHI, 2012)

Esta espécie é tida como promissora no controle de *D. citri* devido a bons resultados alcançados pela sua utilização em programas de controle biológico clássico. Na ilha Reunião, o Huanglongbing (HLB) foi detectado pela primeira vez em 1967. Até a segunda metade dos anos 70, o controle era realizado exclusivamente por aplicação de inseticidas quando foi sugerida a introdução do parasitóide. Foram então importados alguns indivíduos da Índia e multiplicados durante oito meses em laboratório, sendo então liberados em 14 regiões diferentes da ilha. Foi realizada a liberação de mais de 5000 parasitoides entre 1978 e 1979, sendo verificado, por meio de recapturas, que *T. radiata* havia se estabelecido. Em levantamentos realizados ao longo dos anos 80 verificou-se que a população de *D. citri* sofreu uma forte redução estando restrita a apenas algumas áreas de murta (ETIENNE et al., 2001).

Na ilha Guadalupe, no ano de 1998, foi registrada a presença do psíldeo, sem entanto haver a doença. Baseado no caso de sucesso da ilha Reunião decidiu-se proceder a introdução do parasitóide. Estes foram liberados em 20 distritos da ilha, sendo posteriormente verificado que eles haviam se dispersado para outras regiões da ilha e que a população do psíldeo havia decrescido consideravelmente (ETIENNE et al., 2001). Uma das razões apontadas para o sucesso do controle nestes locais é atribuída a ausência de hiperparasitoides que comprometem o pleno controle em regiões continentais.

O parasitoide foi também introduzido nas Filipinas, em duas localidades distintas, nas quais foi multiplicado e liberado, tendo sido observadas taxas de parasitismo que variaram de 15 a 67% nos anos de 1989 e 1990 (GAVARRA; MERCADO; GONZALES, 1990).

Em Taiwan foram realizadas liberações sucessivas entre os anos de 1983 e 1986, em plantas de citros e murta. Foram registradas taxas de parasitismo de 30 a

87%, bem como sua dispersão por áreas onde não foram realizadas liberações, comprovando sua capacidade de dispersão (CHIU; AUBERT; CHIEN, 1988).

T. radiata foi também introduzido como forma de controle biológico clássico na Flórida. Neste estado americano o psílídeo foi detectado em 1998, ainda sem a presença da doença; dois anos depois, decidiu-se realizar a importação dos dois parasitóides, *D. aligarhensis* e *T. radiata*. O primeiro não conseguiu se estabelecer, não sendo mais encontrado em levantamentos posteriores. *T. radiata* por outro lado, se distribuiu naturalmente em regiões onde não havia sido liberado (MICHAUD, 2004).

Em levantamento realizado em Porto Rico no anos de 2004 e 2005, Pluke; Qureshi e Stansly (2008) registraram um parasitismo médio de *T. radiata* de 70%, alcançando até 100% em algumas ocasiões, em plantas de citrus e murta de cheiro; aqueles autores verificaram um declínio da população de *D. citri* quando existiam condições ideais ao seu desenvolvimento (alta disponibilidade de novas brotações e temperatura amena), tal fato foi relacionado à eficácia do parasitoide.

No Brasil, Gomez-Torres (2009) realizou liberações do parasitoide em três áreas comerciais de produção de laranja. Esta autora verificou que a porcentagem de ninfas de 4º e 5º ínstaes (preferidas pelo parasitóide) diminuiu após a liberação de *T. radiata* nas áreas estudadas. Foram alcançadas porcentagens de parasitismo de até 72,75%, oito dias após a liberação do agente de controle, havendo, no entanto uma redução para uma faixa de 4,17 a 10% de parasitismo 15 dias após a liberação.

Foi verificado por Paiva (2009) em levantamento de campo, um parasitismo diferenciado entre variedades de citrus mais cultivadas no estado de São Paulo, de 8,6 a 35,6% nas variedades Valência e Hamlin respectivamente. Entretanto, este fato não foi confirmado em testes de laboratório, para parasitismo e desenvolvimento do inimigo natural, utilizando-se aquelas mesmas variedades (ALVES, 2012). De acordo com Man et al. (2010) *T. radiata* é atraído pelo psílídeo atacando plantas de citrus, mas não pela planta atacada sem a presença de *D. citri*.

A presença do parasitoide em áreas urbanas foi também registrada, uma vez que a planta de murta (*M. paniculata*), tida como hospedeiro preferencial de *D. citri* é amplamente utilizada em paisagismo, estes locais podem servir como fonte de psílídeos ou seus parasitoides. Foi verificado um parasitismo médio de 18,5% ao

longo de um ano em cerca-vivas de murta em quatro locais da Florida, EUA (CHONG; RODA; MANIONN, 2010).

O não estabelecimento de *T. radiata* em algumas regiões após sua inoculação pode ser atribuído a presença de hiperparasitoides. Em levantamento na província de Fujian, China, Yang et al. (2006) verificou que em mais de 30% das amostras de ninfas parasitadas por *T. radiata* havia a presença de algum hiperparasitoide.

Embora em condições de laboratório *T. radiata* apresente altas taxas reprodutivas e capacidade de controlar o psíldeo, em condições de campo, na Florida, EUA, os resultados têm sido variáveis. No verão e primavera as taxas de parasitismo não alcançaram 20%, atingindo 56% durante o outono (PLUKE; QURESHI; STANSLY, 2008). Segundo os autores, não foi registrada a presença de hiperparasitoides naqueles locais, sendo esta variação atribuída à extremas condições climáticas daquele estado, bem como, utilização intensiva de inseticidas para o controle de *D. citri*.

Avaliando a toxicidade de 16 agroquímicos, dentre inseticidas e fungicidas, para *T. radiata*, Hall e Nguyen (2010), verificaram que 12 deles apresentaram alta ou moderada toxicidade para o parasitoide.

De acordo com Parra et al. (2010) a eficácia do parasitoide no Brasil também é comprometida pelo uso excessivo de inseticidas, sendo necessário o emprego de produtos seletivos para utilização de *T. radiata* como componente do manejo integrado de pragas. Avaliação realizada por Paiva e Parra (2012) em pomar comercial verificou um parasitismo natural de *T. radiata* de apenas 1,6%.

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

A identificação de produtos não nocivos ao parasitoide se torna fundamental uma vez que, de acordo com o Ministério da Agricultura existem atualmente 20 produtos registrados para o controle de *D. citri* (AGROFIT, 2012), destes, seis utilizam imidacloprid como princípio ativo. Segundo Ferrari (2009) este composto foi o mais tóxico para *T. radiata* dentre os testados por aquela autora em contato residual. Mesmo na concentração de 10% da dose recomendada de imidacloprid ainda foram verificados efeitos deletérios ao parasitoide, bem como em testes de

toxicidade residual, nos quais após 14 dias ainda se verificava mortalidade média de 30% (CARVALHO, 2008).

2.4 Referências

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 05 dez 2012.
- ALBRECHT, U.; BOWMAN, K.D. 6 Tolerance of the Trifoliolate Citrus Hybrid US-897 (*Citrus reticulata* Blanco x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) to Huanglongbing. **Hortscience**, Alexandria, v. 46, n. 1, p. 16-22, 2011.
- ALBRECHT, U.; BOWMAN, K.D. Tolerance of trifoliolate citrus rootstock hybrids to *Candidatus Liberibacter asiaticus*. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 147, p. 71-80, 2012.
- ALVES, G.R. **Relações tritróficas: Variedades de Citros x citri Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) x Tamarixia radiata (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)** 2012. 69p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- AUBERT, B. *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v. 42, p. 149-162, 1987.
- BASSANEZI, R.B.; MONTESINO, L.H.; GASPAROTO, M.C.G.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Yield loss caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in São Paulo, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 130, n. 4, p. 577-586, 2011.
- BASSANEZI, R.B.; MONTESINO, L.H.; STUCHI, E.S. Effects of huanlongbing on fruit quality of sweet Orange cultivars in Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 125, n. 4, p. 565-572, 2009.
- BELASQUE Jr, J.; BASSANEZI, R.B.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; TACHIBANA, A.; VIOLANTE, A.R.; TANK Jr, A.; GIORGI, F.; DI TERSI, F.E.A.; MENEZES, G.M.; DRAGONE, J.; JANK Jr, R.H.; BOVÉ, J.M. Lessons from huanglongbing management in São Paulo state, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 92, n. 2, p. 285-302, 2010.
- BELASQUE Jr., J.; BERGAMIN FILHO, A.; BASSANEZI, R.B.; BARBOSA, J.C.; FERNANDES, N.G.; YAMAMOTO, P.T.; LOPES, S.A.; MACHADO, M.A.; LEITE Jr., R.P.; AYRES, A.J.; MASSARI, C.A. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 4, p. 137-145, 2009.

BONANI, J.P. **Caracterização do aparelho bucal e comportamento alimentar de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck**. 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

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

BURCKHARDT, D.; OUVARD, Article A revised classification of the jumping plant-lice (Hemiptera : Psylloidea). **Zootaxa**, Auckland, v. 3620, n. 1, p. 129–146, 2013.

CAMARGO, N.C.; GOMEZ-TORRES, M.L.; PARRA, J.R.P. Efeito da disponibilidade de alimento no parasitismo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2007, Pirassununga, **Resumos...** São Paulo: USP, 2007.

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

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

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

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

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

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

CHIEN, C.C.; CHIU, S.C.; KU, S.C. Mass rearing and field release of an eulophid wasp, *Tamarixia radiata* (waters.). Control Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. **Food and Fertilizer Technology Center**, Taipei, n. 2001-2005, 2001. 4p.

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

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

CHONG, J.H.; RODA, A.L.; MANNION, C.M. Density and Natural Enemies of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), in the Residential Landscape of Southern Florida. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Mt. Pleasant, v. 27, n. 1, p. 33-49, 2010.

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

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

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

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

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

DAMSTEEGT, V.D.; POSTNIKOVA, E.N.; STONE, A.L.; KUHLMANN, M.; WILSON, C.; SECHLER, A.; SCHAAD, N.W.; BRLANSKY, R.H.; SCHNEIDER, W.L. *Murraya paniculata* and Related Species as Potential Hosts and Inoculum Reservoirs of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*', Causal Agent of Huanglongbing. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 5, p. 528-533, 2008.

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

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

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

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

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

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

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

FONSECA, O.; VALERA, N.; VASQUEZ, C. Registro y ciclo de vida de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en tres hospederos en el estado Lara, Venezuela. **Entomotropica**, Maracay, v. 22, n. 3, p. 145-152, 2007.

FUNDECITRUS. 2009. Disponível em: [http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Greening-\(HLB\),35](http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Greening-(HLB),35). Acesso em 07 ago. de 2009.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

HALBERT, S.E. The Discovery of huanglongbing in Florida. In: INTERNATIONAL CITRUS CANCER AND HUANGLONGBING RESEARCH WORKSHOP, 2., 2005, Orlando. **Proceedings...** Orlando: Florida Citrus Mutual, 2005. p. 50.

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

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

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

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

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

HALL, D.G.; WENNINGER, E.J.; HENTZ, M.G. Temperature studies with the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: Cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. **Journal of Insect Science**, Tucson, v. 11, p. 1-15, 2011.

HARTUNG, J.S.; HALBERT, S.E.; PELZ-STELINSKI, K.; BRLANSKY, R.H.; CHEN, C.; GMITTER, F.G. Lack of Evidence for Transmission of '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' Through Citrus Seed Taken from Affected Fruit. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 10, p. 1200-1205, 2010.

HOODLE, M.S. Foreign exploration for natural enemies of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), in the Punjab of Pakistan for use in a classical biological control program in California USA. **Pakistan Entomologist**, Faisalabad, v. 34, n. 1, p. 1-5, 2012.

HOY, M.; NGUYEN, R.; JEYAPRAKASH, A. **Classical Biological Control of Asian Citrus Psyllid in Florida**. Disponível em:
<<http://ipm.ifas.ufl.edu/agriculture/citrus/psyllid.shtml>>. Acesso em: 07 dez. 2012.

ICHINOSE, K.; MIYAZI, K.; MATSUHIRA, K.; YASUDA, K.; SADOYAMA, Y.; TUAN D.H.; DOAN, V.B. Unreliable pesticide control of the vector psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) for the reduction of microorganism disease transmission. **Journal of Environmental Science and Health. Part. B**, Philadelphia, v. 45, n. 5, p. 466-472, 2010.

ICHINOSE, K.; NGUYEN V.H.; BANG, D.V.; TUAN, D.H.; DIEN, L.Q. Limited efficacy of guava interplanting on citrus greening disease: Effectiveness of protection against disease invasion breaks down after one year. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 34, p. 119-126, 2012.

IKEDA, K.; ASHIHARA, W. Preference of adult asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) for *Murraya paniculata* and *Citrus unshiu*. **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 52, n. 1, p. 27-30, 2008.

INOUE, H.; IHONISHI, J.; ITO, T.; TOMIMURA, K.; MYATA, S.; IWANAMI, T.; ASHIHARA, W. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. **Annals of Applied Biology**, Tokio, v.155, p. 29-36, 2009

- JAGOUÉIX, S.; BOVÉ, J.; GARNIER, M. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the Proteobacteria. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Berks, v. 44, p. 379-386, 1994.
- JUAN-BLASCO, M.; QURESHI, J.A.; URBANEJA, A.; STANSLY, P.A. Predatory mite *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae), for biological control of asina citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 95, n. 3, p. 543-551, 2012.
- KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia**, Piracicaba: Ceres, 2005. 663p.
- KOBORI, Y.; NAKATA, T.; OHTO, Y. Estimation of Dispersal Pattern of Adult Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). **Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 55, n. 3, p. 177-181, 2011.
- KOBORI, Y.; NAKATA, T.; OHTO, Y.; TAKASU, F. Dispersal of adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the vector of citrus greening disease, in artificial release experiments. **Applied Entomology and Zoology**, Tokio, v. 46, n. 1, p. 27-30, 2010.
- KOH, E.; ZHOU, L.; WILLIAMS, D.S.; PARK, J.; DING, N.; DUAN, Y.; KANG, B. Callose deposition in the phloem plasmodesmata and inhibition of phloem transport in citrus leaves infected with “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” **Protoplasma**, Viena, v. 249, p. 687-697, 2012.
- KUCHMENT, A. The End of Orange Juice. **Scientific American**, New York, v. 308, n. 3, p. 44-51, 2013.
- LAMA, T.K.; REGMI, C.; AUBERT, B. Distribution of citrus greening disease vector (*Diaphorina citri* Kuw.) in Nepal and attempts to establish biological control. In: CONFERENCE OF THE IOCV, 10., 1988, Valencia. **Proceedings...** Riverside: IOCV, 1988. p. 255-257.
- LEAL, R.M.; BARBOSA, J.C.; COSTA, M.G.; BELASQUE Jr., J.; YAMAMOTO, P.T.; DRAGONE, J. Distribuição espacial de huanglongbing (greening) em citros utilizando a geoestatística. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 808-818, 2010.
- LEÓN, J.H.; SÉTAMOU, M.; GASTAMINZA, G.A.; BUENAHORA, J.; CÁCERES, S.; YAMAMOTO, P.T.; BOUVET, J.P.; LOGARZO, G.A. Two Separate Introductions of Asian Citrus Psyllid Populations Found in the American Continents. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 104, n. 6, p. 1392-1398, 2011.
- LIU, Y.H.; TSAI, J.H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 137, p. 201-206, 2000.

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

LOPES, S.A.; BERTOLINI, E.; FRARE, E.C.; MARTINS, E. C.; WULFF, N.A.; TEIXEIRA, D.C.; FERNANDES, N.G.; CAMBRA, M. Graft transmission efficiencies and multiplication of '*Candidatus Liberibacter americanus*' and '*Ca. Liberibacter asiaticus*' in citrus plants. **Phytopatology**, Saint Paul, v. 99, n. 3, p.301-306, 2008.

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

LOPES, S.A.; FRARE, G.F.; CAMARGO, L.E.A.; WULFF, N.A.; TEIXEIRA, D.C.; BASSANEZI, R.B.; BEATTIE, G.A.C.; AYRES, A.J. Liberibacters associated with orange jasmine in Brazil: incidence in urban areas and relatedness to citrus liberibacters. **Plant Pathology**, Chichester, v. 59, n. 6, p. 1044-1053, 2010.

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

MALIK, N.S.A.; PEREZ, J.L.; PATT, J.E.; ZIBILSKIE, L.M.; MANGAN, R.L. Increased infestation of Asian citrus psyllids on cold treated sour orange seedlings: Its possible relation to biochemical changes in leaves. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v. 10, n. 2, p. 424-429, 2012.

MANN, R.S.; PELZ-STELINSKI, K.; HERMANN, S.L.; TIWARI, S.; STELINSKI, L.L. Sexual transmission of a plant pathogenic bacterium, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, between conspecific insect vector during mating. **Plos One**, San Francisco, v. 6, n. 12, p. 1-8, 2011.

MANN, R.S.; QURESHI, J.; STANSLY, P.A.; STELINSKI, L.L. Behavioral Response of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) to Volatiles Emanating from *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) and Citrus. **Journal of Insect Behavior**, Riverside, v. 23, p. 447-458, 2010.

MASAOKA, Y.; PUSTIKA, A.; SUBANDIYAH, S.; OKADA, A.; HANUNDIN, E.; PURWANTO, B.; OKUDA, M.; OKADA, Y.; SAITO, A.; HOLFORD, P.; BEATTIE, A.; IWANAMI, T. Lower concentrations of microelements in leaves of citrus infected with '*Candidatus Liberibacter asiaticus*'. **Japan Agricultural Research Quarterly**, Ibaraki, v. 45, n. 3, p. 269-275, 2011.

McFARLAND, C.D.; HOY, M.A. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and Its Two Parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under Different Relative Humidities and Temperature Regimes. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 84, n. 2, p. 227-233, 2001.

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

MENEGUIM, L.; BUASSI, M.; VILAS-BOAS, L.A.; MARQUES-MARÇAL, V.V.; PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; LEITE Jr., R.P. Ocorrência de *Candidatus Liberibacter asiaticus* agente causal do huanglongbing no estado do Paraná. **Tropical Plant Pathology** (suplemento), Brasília, v. 33, s.100, 2008.

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

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

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

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

NAVA, D.E.; GOMEZ-TORRES, M.L.; RODRIGUES, M.D.L.; BENTO, J.M.S.; HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. The Effects of Host, Geographic Origin, and Gender on the Thermal Requirements of *Diaphorina Citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 39, n. 2, p. 678-84, 2010.

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

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

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

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

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

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

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

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

PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico: Uma visão inter e multidisciplinar. In: _____ (Ed.). **Controle Biológico no Brasil Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 8, p. 125-137.

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

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

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

PIETERSEN, G.; ARREBOLA, E.; BREYTENBACH, J.H.J.; KORSTEN, L.; ROUX, H.F.; GRANGE, H.; LOPES, S.A.; MEYER, J.B.; PRETORIUS, M.C.; SCHWERDTFEGER, M.; VUUREN, S.P.; YAMAMOTO, P.T. A Survey for ‘*Candidatus Liberibacter*’ Species in South Africa Confirms the Presence of Only ‘*Ca. L. africanus*’ in Commercial Citrus. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 2, p. 244-249, 2010.

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

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

PLUKE, R.W.; 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**, Lutz, v. 91, n. 1, p. 36-42, 2008.

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

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

QURESHI, J. ***Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae).** Disponível em: <<http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/parasitoids/Tamarixia.html>> Acesso em 18 ago. 2012.

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

QURESHI, J.A.; STANSKY, P.A. Three homopteran pests of citrus as prey for the convergent lady beetle: suitability and preference. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 40, n. 6, p. 1503-1510, 2011.

REYES-ROSAS, M.A.; LOPEZ-ARROYO, J.I.; BUCK, M.; LOERA-GALLARDO, J. First report of a predaceous wasp attacking nymphs of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), vector of HLB. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 94, n. 4, p. 1075-1077, 2011.

ROGERS, M.E.; STANSKY, P.A. Biology and management of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, in Florida Citrus. **Ifas Extension**, 7p. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN668>. Acesso em: 25 jul 2009.

ROSALES, R.; BURNS, J.K. Phytohormone Changes and Carbohydrate Status in Sweet Orange Fruit from Huanglongbing-infected Trees. **Journal of Plant Growth Regulation**, New York, v. 30, n. 3, p. 312-321, 2011.

SALOIS, M.J.; JAUREGUI, C.; FERREL, L. **Citrus Reference Book**, Gainesville: Florida Department of Citrus, 2012, 91p.

SANKARAN, S.; MISHRA, A.; MAJA, J.M.; EHSANI, R. Visible-near infrared spectroscopy for detection of Huanglongbing in citrus orchards. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 127-134, 2011.

SÉTAMOU, M.; SANCHEZ, A.; PATT, J.M.; NELSON, S.D.; JIFON, J.; LOUZADA, E.S. Diurnal Patterns of Flight Activity and Effects of Light on Host Finding Behavior of the Asian Citrus Psyllid. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 25, n. 3, p. 264-276, 2012.

SHIVANKAR, V.J.; RAO, C.N.; SINGH, S. Studies on citrus Psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama: a review. **Agricultural Reviews**, Karnal, n. 21, p. 199-204, 2000.

SHOKROLLAH, H.; ABDULLAH, T.L.; SIJAM, K.; ABDULLAH, S.N.A. Potential use of selected citrus rootstocks and interstocks against HLB disease in Malaysia. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 30, n. 5, p. 521-525, 2011.

SHOKROLLAH, H.; ABDULLAH, T.L.; SIJAM, K.; ABDULLAH, S.N.A. Ultrastructures of *Candidatus* Liberibacter asiaticus and its damage in huanglongbing (HLB) infected citrus. **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 9, n. 36, p. 5897-5901, 2010.

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.

STOVER, E.; MCCOLLUM. Incidence and Severity of Huanglongbing and *Candidatus* Liberibacter asiaticus Titer among Field-infected Citrus Cultivars. **Hortscience**, Alexandria, v. 46, n. 10, p. 1344-1348, 2011.

TECK, S.L.C.; FATIMAH, A.; BEATTIE, A.; HENG, R.K.J.; KING, W.S. Influence of host plant species and flush growth stage on the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, New York, v. 6, n. 4, p. 536-543, 2011.

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

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

TIWARI, S.; LEWIS-ROSENBLUM, H.; PELZ-STELINSKI, K.; STELINSKI, L.L. Incidence of *Candidatus* Liberibacter asiaticus Infection in Abandoned Citrus Occurring in Proximity to Commercially Managed Groves. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 6, p. 1972-1978, 2010.

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

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

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

WEATHERSBEE, A.A.; MCKENZIE, C.L. Effect of a neem biopesticide on repellency, mortality, oviposition, and development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, Lutz, v. 88, n. 4, p. 401-407, 2005

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

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

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

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

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

3 - AVALIAÇÃO DE ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) E *Tamarixia radiata* (WATERSTON, 1922) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE), VISANDO A OTIMIZAÇÃO DA CRIAÇÃO DO INIMIGO NATURAL

Resumo

O psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), é considerado atualmente a mais importante praga da cultura cítrica devido à transmissão das bactérias causadoras do Huanglongbing (HLB). Como não existem, ainda, medidas curativas para a doença, seu manejo se baseia no controle do vetor. O parasitoide, *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), vem sendo liberado, com bons resultados, em algumas partes do mundo para controlar o psíldeo. Portanto, para tal utilização, sua produção em larga escala é fundamental, o que exige também a criação da praga. Com o objetivo de aumentar a eficiência da criação de *D. citri* para produção de *T. radiata*, diversos aspectos foram estudados. Foi avaliado qual é o melhor tamanho de desenvolvimento da brotação de plantas de murta para oviposição e alimentação de *D. citri*. Foram estudados os efeitos sobre a biologia de *D. citri* criado sobre dois hospedeiros, *Murraya paniculata* e *M. koenigii*. Foi investigada a possibilidade de utilização de ramos destacados de murta com ninfas parasitadas por *T. radiata* em substituição à planta intacta. Foi avaliado o efeito do fornecimento de alimentação suplementar aos adultos de *T. radiata*. Foi avaliada a validade em campo do modelo de exigências térmicas para *D. citri* e *T. radiata* determinado em laboratório. Verificou-se que tanto em testes de confinamento quanto com chance de escolha, *D. citri* apresenta preferência de oviposição por brotações de tamanho variando de 1,0 a 2,6 cm. Para alimentação, a preferência é para aquelas com mais de 4,3 cm. Para a biologia não foram verificadas diferenças para quase todos os parâmetros avaliados entre *M. paniculata* e *M. koenigii*; entretanto, em teste com chance de escolha, os psíldeos preferiram ovipositar e se alimentar em plantas de *M. paniculata*. A utilização de ramos de murta destacados, com ninfas parasitadas, além de permitir uma alta emergência, desde que se mantenha a umidade relativa entre 60 e 80%, também promoveu uma redução considerável no tempo de coleta dos parasitoides. A alimentação suplementar, de adultos, de *T. radiata* não afetou a taxa de parasitismo nem a longevidade dos parasitoides. Foi observado que em períodos mais quentes, há um bom ajuste do modelo proposto de exigências térmicas tanto para *D. citri*, quanto para *T. radiata*; por outro lado, em períodos mais frios o modelo de exigências térmicas não se ajustou, em campo, principalmente para *T. radiata*. Os resultados apresentaram importantes aspectos que podem aumentar o rendimento da produção do inimigo natural, e deste modo, elevar a eficiência de um programa de controle biológico que vise sua utilização.

Palavras-chave: Psíldeo; Criação; Rendimento da produção; Biologia; Controle biológico

Abstract

The Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) is presently considered the most important pest of citrus crops, because it transmits the Huanglongbing (HLB) bacterium. As no curative methods exist for this disease, its management is based on controlling the vector. The parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) is being released with excellent results in some parts of the world, to control the psyllid. Therefore, for this application, large-scale production of the parasitoid is fundamental. In order to increase the efficiency of *D. citri* rearing for the production of *T. radiata*, several aspects were studied. The best development size of budding shoots of the orange jasmine plant for feeding and oviposition of *D. citri* was evaluated. The effects of budding stage on the biology of *D. citri* reared on two hosts, *Murraya paniculata* and *M. koenigii*, were also evaluated. The possibility of using cut branches of orange jasmine with nymphs of *D. citri* parasitized by *T. radiata*, rather than the intact plant, was investigated. The effect of providing supplementary food to *T. radiata* adults was evaluated. The validity in field conditions of the thermal-requirements model for *D. citri* and *T. radiata*, determined in laboratory conditions, was assessed. In both no-choice and free-choice tests, *D. citri* showed a preference for ovipositing on budding shoots between 1.0 and 2.6 cm long; and for feeding, preferred shoots more than 4.3 cm long. Almost all biological parameters evaluated did not differ between *M. paniculata* and *M. koenigii*; however, in free-choice tests, the psyllid preferred to oviposit and feed on *M. paniculata* plants. The use of cut branches of orange jasmine, with parasitized nymphs, resulted in a high emergence in 60% to 80% relative humidity, and also substantially reduced the time needed to collect the parasitoid. Supplementary feeding of *T. radiata* adults did not affect the parasitism incidence or the longevity of the parasitoids. Under field conditions, in warmer periods the proposed model for thermal requirements changed considerably for both *D. citri* and *T. radiata*; but in the coldest periods, the thermal-requirements model did not change much, principally in *T. radiata*. These results revealed important aspects that may help to rear the natural enemy, and thus increase the efficiency of a biological control program using this parasitoid.

Keywords: Psyllid; Rearing; Production income; Biology; Biological control

3.1 Introdução

Embora a presença de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) tenha sido relatada no Brasil desde a década de 1940 (COSTA LIMA, 1942), poucos estudos sobre esta espécie foram desenvolvidos até o final dos anos 90. Entretanto, a partir da detecção, no Brasil, do Huanglongbing (HLB) (COLETTA-FILHO et al., 2004), grave doença que vem atingindo a citricultura mundial, e da qual o psílídeo é o vetor no país, *D. citri* vem sendo melhor estudado.

Uma vez que ainda não foram encontradas medidas curativas para a doença e a identificação de materiais resistentes não tem tido resultados práticos, o foco do manejo se concentra em evitar a disseminação do HLB, principalmente, por meio do controle do vetor.

O manejo de *D. citri* é realizado principalmente por meio da aplicação de agroquímicos, que podem trazer sérias consequências, como a seleção de linhagens resistentes, contaminação ambiental e ainda aumentar o custo de produção.

Dentro do manejo integrado do psílídeo, pode ser utilizado o controle microbiano com entomopatógenos e o controle biológico com ação de predadores e parasitoides, sendo o mais promissor, o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), que foi relatado pela primeira vez no Brasil em 2005 (GOMEZ-TORRES et al., 2006). Este parasitoide tem se mostrado eficiente em liberações inoculativas e aumentativas em diversas partes do mundo e possui potencial para utilização também em condições brasileiras, como demonstrado por Gomez-Torres (2009).

Uma vez que não foram identificados hospedeiros alternativos de *T. radiata*, sua criação depende da criação de seu hospedeiro natural, *D. citri*. Portanto, com o objetivo de se obter uma grande população do inimigo natural para utilização em um programa de controle biológico, há a necessidade de se manter também uma grande criação da praga.

De acordo com Parra et al. (2002) dentre as etapas para implantação de um programa de utilização de inimigos naturais, está o pleno conhecimento das principais características biológicas das espécies envolvidas, de modo a se obter o melhor rendimento na criação dos mesmos. Embora criações das duas espécies já venham sendo realizadas em diversos laboratórios, nenhuma delas apresenta a

escala necessária para produção de um grande número de indivíduos, suficientes para atingir a citricultura paulista (ou brasileira) como um todo.

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi estudar aspectos biológicos e comportamentais envolvidos na criação das duas espécies, de modo a se obter um maior rendimento da produção do psíldeo e do inimigo natural e aumentar a viabilidade da utilização de *T. radiata* em programas de manejo integrado de pragas em larga escala na citricultura brasileira.

3.2 Material e métodos

Para o desenvolvimento desta pesquisa, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), foram criados no laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP, segundo metodologia modificada de Gomez-Torres (2009). Para que os objetivos pudessem ser alcançados, foram desenvolvidos cinco experimentos relatados a seguir:

3.2.1 Experimentos referentes à criação de *D. citri*

3.2.1.1 Efeito do tamanho das brotações das plantas de murta (*Murraya paniculata*) (L.) Jack sobre a fertilidade e preferência alimentar de *D. citri*

- Teste de preferência de oviposição sem chance de escolha

O objetivo deste experimento foi verificar qual tamanho da brotação da planta de murta proporciona o maior número de ovos do psíldeo.

As unidades experimentais instaladas, constituíram-se de “gaiolas” representadas por copos de polietileno de 770 ml, com uma abertura no fundo na qual foi fixada uma cobertura de tecido tipo “voile”, para permitir a troca de ar. Na tampa do copo foi feito um furo e colocado um tubete de 50 ml de capacidade com uma planta de murta. A tampa com a planta foi encaixada no copo e este mantido invertido (Figura 1).

As brotações da planta de murta, desde o aparecimento da gema até o completo alongamento das folhas, foram separadas em quatro categorias, em função do tamanho (Tabela 1). Ao longo deste , os tecidos, inicialmente tenros, se tornam cada vez mais endurecidos até a completa maturação da folha. O tamanho médio de cada categoria foi definido tomando-se dez exemplares de cada uma separados visualmente e medidos desde a inserção no caule até a folha apical com auxílio de um paquímetro.

Em cada gaiola foi colocada uma planta de murta com um tamanho da brotação, sendo que, cada tamanho de brotação representou um tratamento. Foram realizados testes de preferência de oviposição, com e sem chance de escolha, com o intuito de se determinar qual o melhor tamanho no desenvolvimento da brotação a ser oferecida para os insetos, de modo a se obter o máximo de oviposição de *D. citri*.

Figura 1 - Unidade experimental, utilizada para avaliar a fertilidade e preferência alimentar de *D. citri*

Tabela 1 - Comprimento médio e intervalo de variação (cm) de quatro tamanhos de brotações das plantas de murta (*M. paniculata*), avaliadas para fertilidade e preferência alimentar de *D. citri*

Tratamento	Tamanho médio	Intervalo
Brotação 1	0,5	0,3 – 0,9
Brotação 2	1,0	0,7 – 1,4
Brotação 3	2,6	2,0 – 2,9
Brotação 4	4,3	3,5 – 5,0

No presente experimento, foram colocados três casais de *D. citri* em cada gaiola (Figura 1), que foram transferidas para câmaras climatizadas, programadas para manter a temperatura a 25°C, UR de 70% e fotofase de 14 horas. Os insetos foram mantidos nas referidas condições por três dias, após os quais foi realizada a contagem dos ovos.

- Teste de preferência de oviposição com chance de escolha

As unidades experimentais foram constituídas de gaiolas cúbicas de 50 cm de lado, com armação plástica e revestidas com tela antiafídeo. Em cada uma delas foram colocadas quatro plantas de murta, cada uma com um tamanho de brotação, igualmente distantes entre si. No centro da gaiola foram liberados 6 casais de *D. citri*. O experimento foi realizado em salas climatizadas a 25°C e com fotofase de 14

horas. Após três dias, foram contados o número de insetos presentes em cada planta, bem como o número de ovos.

Ambos os experimentos foram instalados em um delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições em cada, e os dados submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.1.2 Biologia e preferência de oviposição de *D. citri* em dois hospedeiros, *M. paniculata* e *Murraya koenigii* (L.) Sprengel

- Biologia

Os hospedeiros utilizados para o estudo da biologia de *D. citri* foram: murta (*M. paniculata*) e árvore do curry (*M. koenigii*).

Utilizando-se gaiolas confeccionadas com tecido tunil, foi confinado em cada planta, por 24 horas, um casal de *D. citri*. Após esse período, os casais foram retirados e os ovos contados com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Foram utilizados casais com 15 dias após atingirem a fase adulta para garantir que já havia ocorrido o período de pré-oviposição de cerca de 10 dias (NAVA et al., 2007). As plantas foram transferidas para câmaras climatizadas mantidas na temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. Foi realizado o acompanhamento diário dos psilídeos até emergência dos adultos.

Os parâmetros avaliados foram: tempo de desenvolvimento, e viabilidade, por meio da contagem diária de ninfas eclodidas e sua mortalidade. Após atingirem a emergência de fase adulta, eles foram, então, separados por sexo com base na observação da parte terminal do abdômen, segundo proposto por Aubert (1987). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5% de probabilidade.

- Testes de preferência de oviposição, com e sem chance de escolha.

Ambos os testes foram realizados obedecendo a mesma metodologia utilizada no item 3.2.1.1. Para o teste com chance de escolha utilizaram-se duas mudas de cada espécie hospedeira por gaiola. O delineamento experimental foi

inteiramente casualizado, com dez repetições. Os dados do teste sem chance de escolha foram transformados para raiz ($x+1$) e submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias ao nível de 5% de probabilidade

3.2.2 Experimentos referente à criação de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae)

3.2.2.1 Otimização da criação de *T. radiata* utilizando-se ramos destacados com ninfas parasitadas.

Parâmetros biológicos

O objetivo deste trabalho foi verificar a viabilidade da retirada dos ramos, com ninfas de *D. citri* parasitadas, para otimização da produção de *T. radiata*, em relação às plantas intactas contendo os parasitoides em desenvolvimento.

Plantas de murta (*M. paniculata*) com ninfas de *D. citri* parasitadas, tiveram seus ramos podados e colocados em caixas de MDF preto (Medium Density Fiberboard ou placa de fibra de madeira de média densidade) (40 x 30 x 30 cm), com abertura na parte superior, na qual foi acoplado um recipiente de vidro de 500 ml (Figura 2). Este sistema foi concebido para

facilitar a coleta dos parasitoides, uma vez que eles tendem a ser atraídos em direção à luz, ficando, deste modo, confinados no recipiente de vidro. Outras plantas de murta intactas, sem corte de ramos, foram mantidas em gaiolas de acrílico (50 x 70 x 50 cm).

O número de ninfas parasitadas foi contado previamente em ambos os sistemas. O recipiente de coleta, bem como, as gaiolas de acrílico foram inspecionados diariamente, quantificando-se os parasitoides obtidos até o final da emergência.

Foram instaladas 12 repetições (caixas ou gaiolas) para cada tratamento avaliando-se a porcentagem de emergência diária em ambos os sistemas.

Figura 2 - A) Vista externa da caixa de coleta de *T. radiata*; B) Recipiente de vidro para coleta dos parasitoides; C) Vista interna da caixa de coleta; D) Ponto de conexão do recipiente, para onde os parasitoides são atraídos.

Dentro da avaliação da viabilidade da poda, foi instalado um teste para verificar o efeito da umidade sobre a emergência dos parasitoides de ramos destacados. Para tanto, foram utilizados, dessecadores vedados com vaselina, nos quais foi colocada solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4), com normalidades adequadas para se obterem quatro porcentagens de umidade relativa diferentes (40%, 60%, 80% e 100%) (SILVEIRA NETO et al., 1976). Em cada cuba foram colocados cinco conjuntos de ramos, podados, com ninfas parasitadas, que foram contadas e registrou-se o número de parasitoides emergidos de cada conjunto.

Após a obtenção os resultados do teste de umidade, foi instalado, um outro ensaio, comparando-se a emergência de *T. radiata* em caixas de MDF e caixas de acrílico, com a diferença de que as caixas de MDF foram aspergidas regularmente com água para se manter um nível elevado de umidade, as gaiolas, por suas próprias características já apresentam, naturalmente, umidade relativa elevada, portanto, não foram aspergidas com água. Tal teste se fez necessário para verificar se a umidificação afetaria a emergência com a utilização das caixas de coleta.

Parâmetro operacional

Foi realizada uma comparação do tempo médio gasto em cada sistema de coleta de *T. radiata*. Para tal determinação, uma pessoa, habituada com a rotina de manutenção do sistema (coleta de parasitoides), foi acompanhada medindo-se o tempo gasto para coleta de 1000 parasitoides com uso de sugador manual. Foram realizadas dez tomadas de tempo com cronômetro para cada sistema de coleta.

Os dados do teste de porcentagem de emergência foram transformados para $\arcsen(\sqrt{P/100})$. Para todos os testes, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.2.2 Efeito de alimentação suplementar de *T. radiata* na sua longevidade e capacidade de parasitismo.

Para realização deste trabalho, foram cortados ramos de murta (*M. paniculata*) com cerca de cinco centímetros, contendo 30 ninfas de *D. citri* de 4º - 5º instares. Cada ramo foi colocado em um tubo de vidro de 10 centímetros de altura

por 2,5 de diâmetro com uma solução de água-ágar a 10% para dar suporte e manter a turgescência do ramo. Foi adicionado à solução, também, metil parahidroxibenzoato (Nipagin), a 0,12% para controle de fungos.

Os tratamentos constituíram-se de quatro tipos de alimentação; mel, mel + pólen (2:1), mel + levedura (2:1) e água. Em cada tubo foi colocada uma gota de cada tipo de alimento. Um casal de *T. radiata*, com 24 horas após atingir fase adulta, foi iberado. O tubo foi fechado com filme plástico e mantido em câmara climatizada à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 14h. O sistema todo foi trocado diariamente até a morte dos parasitoides.

Os ramos foram avaliados cinco dias após terem sido oferecidos ao parasitoides sob microscópio estereoscópico, inspecionando-se cada ninfa para verificar a existência de ovos ou larvas de *T. radiata* aderidos ao corpo, considerando-se, deste modo, como ninfa parasitada.

Foram avaliadas, a longevidade dos parasitoides e sua porcentagem de parasitismo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições. Os dados foram submetidos a análise de variância e comparação de médias teste pelo Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

3.2.2.3 Validação do modelo de exigências térmicas para *Tamarixia radiata* e *Diaphorina citri*.

A validação do modelo de exigências térmicas estimado em laboratório é importante para utilização do parasitoide em campo, bem como prever a dinâmica da praga em diferentes regiões, assim como prever a produção em laboratório, estabelecendo-se planos de produção dos parasitoides e do seu hospedeiro em criações massais. O objetivo deste trabalho foi verificar a validade dos modelos de exigências térmicas estimados em laboratório para *D. citri* e *T. radiata* por Nava et al. (2007) e Gomez-Torres et al. (2009), respectivamente.

Para se realizar a validação para *D. citri*, plantas de limão cravo, em tubetes, foram podadas. Assim que as primeiras brotações surgiram, três casais de *D. citri* foram confinados em cada planta por 24 horas. Após este período, os ovos foram contados e os adultos retirados. As plantas foram mantidas em condições ambientais não controladas e monitoradas por data logger marca Tinytag Ultra 2[®], que registrou as informações referentes à temperatura e umidade relativa a cada 30

minutos. O desenvolvimento dos insetos foi acompanhado até o início da emergência dos adultos.

Para validação do modelo estimado para *T. radiata* foram também utilizadas plantas de limão cravo em tubetes e procedendo-se da mesma forma daquela utilizada para o psílídeo. No entanto, quando as ninfas do psílídeo atingiram o 5º instar, elas foram oferecidas a um casal de *T. radiata*, com dois dias de idade, por um período de 24 horas. Após este período, os adultos do parasitoide foram retirados e as ninfas monitoradas do mesmo modo até início da emergência dos parasitoides.

A temperatura base (T_b) ou limiar térmico de desenvolvimento é a temperatura na qual o inseto tem um metabolismo muito baixo e “praticamente” interrompe seu desenvolvimento, e a constante térmica (K) é a quantidade de energia térmica que a espécie necessita para completar o desenvolvimento, e é dada em graus-dias (GD). Estes dois parâmetros foram obtidos para *T. radiata*, sendo de 7,13°C (T_b) e de 188,70 GD (GOMEZ-TORRES, 2009) e de 13,53°C (T_b) e 210,91 GD (K) para *D. citri* (NAVA et al., 2007), respectivamente. Os valores de T_b e K são estimados obtendo-se os tempos de desenvolvimento total de uma espécie sob diferentes condições de temperatura constante. Por meio destes dados é possível estimar o tempo de desenvolvimento de uma determinada espécie a partir das condições às quais está submetida, por meio da seguinte fórmula:

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

Na qual:

D = Número de dias necessário para completar o desenvolvimento,

K = Constante térmica (graus dias)

T = Temperatura de desenvolvimento (°C)

T_b = Temperatura base (°C)

Foi obtido neste trabalho, o número de dias necessários para completar o desenvolvimento dos insetos, e se dispunham dos dados de temperatura ambiental e temperaturas bases e constantes térmicas já determinadas para cada espécie. Foi calculado o valor de K acumulado em intervalos de 30 minutos (tempo registrado pelo Data Logger) a partir de $(T - T_b)$, até que se atingiu o tempo em que os insetos completaram os respectivos desenvolvimentos. A partir deste dados foi feita uma

média ponderada pelo número de insetos que completou seu desenvolvimento no mesmo intervalo, obtendo-se assim o valor de K médio para cada espécie. O trabalho foi realizado durante o verão e o inverno, de modo a se obter resultados em duas épocas com condições climáticas bem distintas.

3.3 Resultados de Discussão

3.3.1 Efeito do tamanho das brotações das plantas de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack] sobre a fertilidade e preferência alimentar de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae)

Tanto para o teste sem chance de escolha quanto para aquele com chance de escolha, as categorias de brotação 2 e 3, (com comprimento médio de 1,0 e 2,6 cm, respectivamente) foram as preferidas para oviposição de *D. citri* (Figuras 3 e 5), com médias de 10,5 e 8,0 ovos para as brotações 2 e 3, respectivamente em três dias. Estes resultados são semelhantes àqueles obtidos por Teck et al. (2011), que verificaram que *D. citri* prefere colocar seus ovos em brotações de até 1,0 cm de comprimento, embora aqueles autores tenham utilizado plantas de citrus em seu estudo.

Figura 3 - Número médio de ovos e adultos de *D. citri* presentes em quatro categorias de tamanho da brotação de seu hospedeiro *M. paniculata*, em teste com chance de escolha por três dias. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase. Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Avaliando ovos de *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Triozidae), em função do tamanho dos ramos nos quais estavam depositados, Catling (1971) verificou que as maiores viabilidades de ovo foram obtidas em ramos com comprimento variando de 0,6 a 1,5 cm, e observou um padrão semelhante para a viabilidade ninfal. Em relação ao local, os ovos que foram colocados em posição mais terminal, portanto mais próximos do meristema, apresentavam maiores viabilidades.

Segundo Taylor (1992), a oviposição em espécies da superfamília Psylloidea, apresenta como característica principal, a deposição de ovos que possuem um pedicelo inserido no tecido foliar com objetivo de absorção de água para manutenção do desenvolvimento embrionário. Segundo aquele autor, a sobrevivência do ovo, depende, prioritariamente, do balanço da água absorvida pelo pedicelo e aquela perdida pelo córion. De acordo com Hall et al. (2012) *D. citri* possui oviposição deste tipo.

A preferência do psíldeo pelas brotações 2 e 3 para oviposição se deve, provavelmente, à busca de locais onde os ovos possam estar mais protegidos de dessecação, uma vez que segundo Taylor (1992) estes são bastante sujeitos à perda de água. Paiva e Parra (2012) verificaram que as menores sobrevivências de *D. citri*, em condição de campo, se devem à mortalidade maior de ovos e ninfas de primeiro ínstar.

As brotações 2 e 3 não apresentam os folíolos completamente distendidos, e, portanto o espaço entre eles e sua disposição tornam-se bons locais para minimizar a perda de água, uma vez que os ovos podem ser colocados agrupadamente e assim ficarem lateralmente protegidos pelas paredes foliares (Figura 4).

A importância da manutenção da umidade, foi demonstrada por Buckner et al. (2002) para ovos de mosca branca em membranas artificiais com diferentes umidades, tais ovos também possuem

Figura 4 - Quatro diferentes categorias de tamanho da brotação de plantas de murta (*M. paniculata*) utilizadas em testes de oviposição e alimentação de *D. citri*, possuindo, em média, tamanho, em centímetros, de 0,5 (1); 1,0 (2); 2,6 (3) e 4,3 (4).. As imagens não estão na mesma escala

pedicelo semelhante ao de *D. citri*. Os autores verificaram que quando a membrana possuía umidade abaixo de 85%, não ocorria a eclosão as ninfas, em umidade acima de 90% a eclosão variou de 86 a 98%.

A brotação 1, apesar de se constituir de tecido bem tenro, que facilitaria a postura, não apresenta ainda os folíolos e os ovos ficariam assim, mais expostos e sujeitos a dessecação. Por outro lado, a brotação 4, devido ao fato de os folíolos estarem já completamente distendidos, oferece também menor proteção, apesar de permitir, pela maior área, maior espaço para postura.

Figura 5 - Número médio de ovos de *D. citri* presentes em quatro categorias de tamanhos das brotações de seu hospedeiro *M. paniculata*, em teste sem chance de escolha por três dias. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase Médias seguidas da mesma letra, em não diferem entre, si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

Com relação à alimentação de adultos, a brotação 4 foi significativamente superior às demais, sendo o número médio de insetos se alimentando nesta brotação cerca de três vezes superior à média verificada nos demais tamanhos (Figura 3).

A brotação 1 é constituída principalmente de tecido meristemático, e segundo Taiz e Zeiger (2006) o meristema da parte aérea é composto de células pequenas, de parede fina e denso citoplasma, sendo um local pouco vascularizado. Nesta região os insetos terão dificuldades de encontrar vasos onde se alimentar.

De acordo com Machado e Carmello-Guerreiro (2002) a formação dos vasos do floema (vaso no qual o psílídeo se alimenta) em brotações em crescimento, passa por duas fases, nas quais os vasos são, em parte, pouco funcionais. Assim, o

menor número de insetos se alimentando nas brotações 2 e 3 (brotações ainda em processo de alongamento) pode ser devido à baixa disponibilidade de locais de alimentação.

A brotação 4 representa, praticamente, o estágio final de desenvolvimento da folha e portanto teria seu sistema vascular já completamente funcional.

O tecido meristemático das plantas, por se constituir de locais em formação e com alta taxa de divisão celular, possui uma demanda maior de nutrientes que nele chegam via floema; deste modo, as brotações são locais onde a concentração de nutrientes, principalmente aminoácidos, no floema é maior do que em outras partes do vegetal (TAIZ; ZEIGER, 2006). Segundo Wu (1980) esta é uma das razões pelas quais *D. citri* prefere se alimentar em brotações.

Por outro lado, Bonani (2009) afirmou que existem diferenças estruturais entre folhas de citros, novas e maduras, sendo que, estas últimas possuem uma maior esclerificação dos tecidos, o que promove uma resistência mecânica para que o psilídeo alcance o floema, fazendo com que ocorra uma preferência por folhas novas em detrimento das mais velhas.

A importância do comportamento alimentar de *D. citri* se torna clara para seu sucesso reprodutivo do psilídeo, quando, fêmeas recém emergidas foram confinadas para se alimentar, apenas em brotações ou folhas mais velhas de murta, após sete dias, o número médio de ovos maduros foi quase cinco vezes maior naquelas que se alimentaram de folhas novas em relação às fêmeas que foram mantidas sobre folhas maduras (UECHI; IWANAMI, 2012).

Do ponto de vista da criação de *D. citri*, os resultados mostram a importância de se oferecer aos insetos a brotação que esteja no tamanho mais adequado, pois este pode afetar o rendimento da criação.

Assim, poderia se pensar em uma poda escalonada das plantas de murta, de modo que, quando as mesmas fossem disponibilizadas aos insetos tivessem brotações em tamanho adequado para oviposição, bem como outras, que possam servir como melhor sítio para alimentação dos psilídeos. Sugerem-se estudos nesta direção.

3.3.2 Biologia e preferência alimentar e de oviposição de *D. citri* em dois hospedeiros, *M. paniculata* e *Murraya koenigii* (L.) Sprengel

Não foram verificadas diferenças nas viabilidades de ovo, da fase ninfal e viabilidade total do psílídeo, criado nas duas espécies de *Murraya* testadas (Tabela 2). Teck et al. (2011) avaliando também *M. paniculata* e *M. koenigii*, além de *Citrus reticulata*, não observaram diferenças na viabilidade de ninfas de *D. citri*, entre as duas espécies de *Murraya*, observando por outro lado um maior tempo de desenvolvimento total em plantas de *M. koenigii*.

Para *M. paniculata*, o valor obtido de viabilidade de ninfas foi semelhante ao observado por Nava et al. (2007) de 88,8%. Por outro lado, a viabilidade total foi inferior àquela obtida por Liu e Tsai (2000), de 75,4%, também para *D. citri* criado em murta.

Tabela 2 - Médias ($\pm$ erro padrão) de viabilidade de ovos, ninfas e viabilidade total, e razão sexual de *D. citri* criados em dois hospedeiros * Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase

Hospedeiro	n	Viabilidade (%)			Razão sexual
		Ovo	Ninfa	Total	
<i>M. paniculata</i>	15	85,46 $\pm$ 4,15a	80,07 $\pm$ 3,74a	68,43 $\pm$ 3,79a	0,61 $\pm$ 0,08a
<i>M. koenigii</i>	15	81,41 $\pm$ 4,63a	78,26 $\pm$ 5,07a	63,71 $\pm$ 5,57a	0,68 $\pm$ 0,08a

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

Com relação ao tempo médio de desenvolvimento de *D. citri* nos dois hospedeiros não foi verificada diferença para a duração do estágio de ovo. Por outro lado, as durações da fase ninfal e do ciclo total de desenvolvimento foram significativamente diferentes, sendo mais longos em *M. paniculata* (Tabela 3).

Tabela 3 - Médias ($\pm$ erro padrão) de duração das fases de ovo, ninfa e total para *D. citri* criado em dois hospedeiros* Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase

Hospedeiro	n	Duração (dias)		
		Ovo	Ninfa	Total
<i>M. paniculata</i>	15	4,82 $\pm$ 0,10 a	13,39 $\pm$ 0,16 a	18,21 $\pm$ 0,12 a
<i>M. koenigii</i>	15	4,69 $\pm$ 0,13 a	12,06 $\pm$ 0,20 b	16,76 $\pm$ 0,20 b

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

Entre quatro rutáceas, hospedeiras de *D. citri*, avaliadas por Chavan (2004), foi verificado que as plantas de curry, apresentaram os maiores valores de desenvolvimento ninfal e total (14,2 e 15 dias em média respectivamente), contrastando com os valores obtidos no presente trabalho. O maior tempo de desenvolvimento em *M. koenigii*, foi ressaltado por aquele autor, uma vez que esta espécie pode servir de reservatório de novos psíldeos em períodos de menor brotação das outras espécies.

Para o teste com chance de escolha foi verificada uma preferência de *D. citri* por *M. paniculata*, tanto para número de ovos depositados quanto à presença de adultos se alimentando (Figura 6).

Figura 6 - Número médio de ovos e adultos de *Diaphorina citri* em dois hospedeiros, *Murraya paniculata* e *Murraya koenigii*, em teste com chance de escolha por três dias. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Diferenças significativas foram obtidas, também, por Teck et al. (2011), em teste de escolha, que observaram médias de 77,4 ovos em *M. paniculata* e 48,8 em *M. koenigii*, para o número de adultos se alimentando os valores foram de 15,2 e 3,7 adultos por planta, para as duas espécies, respectivamente.

Os resultados, aqui obtidos, corroboram o observado por Aubert (1990), o qual relata que *M. koenigii* juntamente com *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle, estão em segundo lugar como melhores hospedeiros de *D. citri*, atrás, apenas, de *M. paniculata*, tida como hospedeiro preferencial.

Quando confrontados, os dois hospedeiros, em teste sem chance de escolha, não foi verificada diferença significativa entre as duas espécies (Figura 7).

Comparando 87 diferentes hospedeiros do psíldeo, Westbrook et al. (2011), não observaram diferenças entre o número de ovos colocados em *M. koenigii* e *M. paniculata*, embora, um número maior de ninfas tenha sido registrado em plantas de curry. Comparando-se *M. koenigii* com laranja doce e lima ácida, Chakravarthi et al. (1998) observaram que houve quase 50% mais ovos de *D. citri* em plantas de curry, em relação aos dois outros hospedeiros testados. A comparação de *Citrus* spp. e curry foi também feita por Chakraborty et al. (1976), tais autores não conseguiram reproduzir *D. citri* em mudas de *Citrus*, mas obtiveram sucesso quando utilizaram mudas de *M. koenigii*.

Segundo Aubert (1990) é possível que existam diferentes linhagens do psíldeo, que podem conduzir a outros resultados quando avaliados diferentes hospedeiros.

Figura 7 - Número médio de ovos *Diaphorina citri* em *Murraya paniculata* e *Murraya koenigii*, em teste sem chance de escolha por três dias. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase. Dados transformados para raiz(X=1). As médias não se diferem, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

Segundo Singh e Nimbalkar (1977) em condições climáticas desfavoráveis, o psíldeo migra de citros para plantas de curry, sobrevivendo aí até que as condições melhorem, talvez, pelo fato de que folhas de curry, mesmo maduras, sejam mais tenras que folhas de citrus. Embora as últimas pesquisas tenham mostrado que *M. koenigii* não é hospedeira das bactérias causadoras do HLB (DAMSTEEGT et al., 2008; MANJUNATH et al., 2008), os resultados mostram que esta espécie é uma

boa hospedeira para populações brasileiras de *D. citri*, podendo servir como reservatório do psíldeo ou mesmo como meio de transporte para outras regiões como mostrado por Halbert et al. (2010).

Do ponto de vista da criação do psíldeo, os resultados indicam que *M. koenigii* pode ser utilizada em substituição a murta. Entretanto, esta substituição seria para períodos curtos, onde fosse necessário, por exemplo, testar *M. paniculata* frente a outros hospedeiros e, neste caso, os insetos não deveriam ser criados nesta espécie, para evitar um eventual condicionamento pré – imaginal.

A substituição da espécie de murta em uma criação destinada à produção do parasitoide *T. radiata*, não seria economicamente recomendável uma vez que, em média, no mercado brasileiro, mudas de *M. koenigii* custam quatro vezes mais do que aquelas de *M. paniculata*, onerando, assim, os custos de produção do inimigo natural.

3.3.3 Otimização da criação de *T. radiata* utilizando-se ramos destacados com ninfas parasitadas

O ritmo de emergência não variou entre os dois sistemas testados, sendo que cerca de 90% dos parasitoides emergiram até o 7º dia. O período total de emergência durou 15 dias em ambos os sistemas (Figura 8).

Segundo Gomez-Torres (2009) fêmeas de *T. radiata* parasitam mais de 80% dos seus hospedeiros até o sétimo dia de vida, o que é semelhante à emergência observada neste trabalho. Do total de parasitoides, mais de 60% emergiram entre o terceiro e sexto dias após o início da emergência. Isto também coincide com a observação de Gomez-Torres (2009), de que o pico de parasitismo de *T. radiata* ocorre no seu terceiro dia de vida.

Do ponto de vista de uma criação em larga escala do parasitoide, estes resultados são úteis, uma vez que, permitem estabelecer um prazo para eliminação da gaiola ou caixa de emergência, conduzindo, deste modo, a uma maior eficiência do processo produtivo, com redução de custos, pois a mão de obra representa de 70 a 80% do custo total de produção (PARRA, 2002).

Figura 8 - Porcentagem de emergência de *T. radiata*, em dois sistemas de coleta de parasitoides adultos, com ramos destacados (caixas de coleta) e plantas intactas (em gaiolas), ao longo de 15 dias. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase

Inicialmente, na comparação entre os dois sistemas de coleta de parasitoides, para utilização da caixa de emergência, os ramos foram cortados e colocados sem mariuxuunidificação. Nesta situação foi verificada uma menor emergência de *T. radiata* na caixa de coleta em relação à gaiola (Figura 9), representando uma redução de mais de 50% do valor médio obtido na gaiola.

Figura 9 - Porcentagem de emergência de *T. radiata*, em dois sistemas de coletas de parasitoides, sob duas condições, com e sem umidificação do ambiente. Temperatura 25°C, e 14h de

fotofase. Dados transformados para $\arcsen(\sqrt{p/100})$. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

Os resultados obtidos no teste de emergência em diferentes umidades, deixa claro os resultados observados nos sistemas de coleta. A baixa umidade (40%) promoveu uma redução significativa da emergência de *T. radiata* na forma de obtenção dos parasitoides proposta neste trabalho (Figura 10). O ambiente saturado de UR foi igualmente prejudicial para emergência.

Este resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Gomez-Torres (2009) que avaliou também a emergência do parasitoide, mas oriundo de plantas inteiras. Aquela autora, verificou uma emergência de pouco mais de 30% em UR de 30 e 90%. Segundo McFarland e Hoy (2001), adultos de *T. radiata* são sensíveis às baixas UR, as quais reduzem sua sobrevivência, e provavelmente, larvas e pupas são igualmente afetadas.

Figura 10 - Porcentagem de emergência de *T. radiata* submetida a diferentes umidades relativas. Temperatura 25°C, e 14h de fotofase. Médias acompanhadas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

A necessidade de umidificação do ambiente da caixa de emergência tornou-se clara diante dos resultados do segundo teste entre os dois sistemas, nos quais não foi verificada, diferença significativa, na emergência de *T. radiata* (Figura 9).

A grande vantagem da utilização das caixas de emergência em uma criação de *T. radiata*, se torna clara quando avalia-se o tempo gasto para coleta dos parasitoides. O tempo médio, necessário para coleta de 1000 indivíduos na gaiola, é

quase 5 vezes maior do que aquele dispendido para mesma atividade na caixa de emergência (Tabela 4).

Tabela 4 - Tempo médio, em minutos, ($\pm$ erro padrão) necessário para coleta de 1000 adultos de *T. radiata* em dois sistemas de coleta do parasitoide*

	n	Tempo gasto (minutos)
Caixa de emergência	10	12:48 $\pm$ 00:30 a
Gaiola	10	55:24 $\pm$ 04:38 b

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

Segundo Parra (2002) a mecanização ou automatização de processos, ações que reduzam o tempo necessário para realização de determinada tarefa, deve ser incentivada em produções a partir de 3 a 5 mil insetos adultos por semana.

A utilização das caixas de emergência, desde que tomados cuidados quanto à manutenção da umidade relativa, se mostra um avanço na criação de *T. radiata* em grande escala, aumentando a eficiência da produção do parasitoide, podendo ainda ser utilizada para outras espécies que apresentem características semelhantes.

3.3.4 Efeito de alimentação suplementar sobre capacidade de parasitismo e longevidade de *T. radiata*.

Os diferentes alimentos disponibilizados ao parasitoide, *T. radiata*, não afetaram o parasitismo (Figura 11).

O parasitismo, em todos os tratamentos, foi baixo, variando de 11,7% para insetos supridos com solução de mel com pólen, até 14,8% para aqueles que receberam mel com levedura.

Dentre outros parâmetros avaliados, Chien; Chu e Ku (1994), também não verificaram diferenças na fecundidade de *T. radiata*, quando fornecidos os mesmos alimentos utilizados neste trabalho.

T. radiata é considerada pró-ovigênica, ou seja, é uma espécie que acumula nutrientes para sua ovogênese durante o estágio larval. Por outro lado, Jervis et al. (2001), afirmaram que esta espécie apresenta um índice de ovigenia de 0,3, este índice varia de 0 a 1, sendo que quanto mais próximo de 0, mais sinovigênica é a espécie, necessitando, assim de uma suplementação.

Figure 11. Parasitismo médio de *T. radiata* sobre *D. citri* em função do fornecimento de quatro diferentes fontes de alimentação suplementar para os parasitoides. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase

Ainda de acordo com aqueles autores, *T. radiata*, por possuir um comportamento de se alimentar também de seu hospedeiro, não se enquadra nos principais padrões de ovigenia conhecidos para a maioria dos parasitoides, mas apresenta como característica uma taxa de parasitismo inicial alta, seguida por um rápido declínio. Esta característica pode ser claramente observada para os quatros tratamentos utilizados neste trabalho (Figura 12).

Figure 12. Taxa de parasitismo médio diário, de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri*, ao longo dos dez primeiros dias de vida do parasitoide em função do fornecimento de quatro diferentes fontes de alimentação suplementar. Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase.

Diferenças na taxa de parasitismo ao longo da vida de *T. radiata*, também não foram observadas por Chien; Chu e Ku (1994). Avaliando os mesmos alimentos utilizados neste trabalho, aqueles autores também verificaram comportamento de parasitismo similar.

Estes resultados também confirmam o observado por Gomez-Torres (2009), de que o maior parasitismo de *T. radiata* ocorre nos primeiros três dias de vida do parasitoide, bem como a taxa de emergência verificada no experimento 3.3.3.

A longevidade, tanto de machos quanto de fêmeas, foi baixa, variando de 6,3 (água) a 7,1 dias (mel) para machos e de 7,9 (mel + levedura) a 12,2 dias (mel + pólen) para fêmeas, sendo que ambas não foram afetadas pelo alimento fornecido. (Tabela 5).

Tabela 5 - Longevidade média de machos e fêmeas de *T. radiata* em função do fornecimento de quatro tipos de alimento suplementar para os parasitoides.* Temperatura 25°C, 70% UR e 14h de fotofase

	Alimento			
	Água	Mel + Pólen	Mel + Levedura	Mel
Machos	6,3 ± 0,6 a	6,6 ± 1,0 a	6,6 ± 0,8 a	7,1 ± 0,6 a
Fêmeas	9,8 ± 0,9 a	12,2 ± 1,4 a	7,9 ± 0,9 a	11,2 ± 1,5 a

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

Uma grande influência da alimentação sobre a longevidade de *T. radiata* foi observada por Fauvergue e Quilici (1991); quando fornecidos mel puro ou solução aquosa de mel a 50%, a longevidade do parasitoide foi cerca de dez vezes maior do que quando fornecida apenas água.

De acordo com Chien; Chu e Ku (1994), a longevidade de *T. radiata* não é alterada, independente do alimento fornecido, desde que seja oferecido o hospedeiro. Na ausência do hospedeiro, o fornecimento de mel ou suas misturas com pólen e levedura promovem um aumento significativo da longevidade em relação ao oferecimento de água ou água misturada com pólen ou levedura.

A baixa longevidade e parasitismo verificados neste trabalho, devem-se, provavelmente, à metodologia utilizada, que envolveu o confinamento dos parasitoides em um espaço muito restrito (cerca de 35 cm³), bem como a uma manipulação excessiva dos mesmos em função da troca diária de alimento e

hospedeiros. Assim, pode ter ocorrido uma alteração no comportamento dos mesmo, conduzindo a estes resultados.

Do ponto de vista da produção de parasitoides para liberação em campo, o fornecimento de suplementação alimentar, pode desempenhar um importante papel.

Embora os resultados mostrem que o fornecimento de alimento não afete as taxas de parasitismo em si, o parasitoide necessita de energia para manutenção de seu metabolismo e atividades de forrageamento.

De acordo com Jervis; Kidd e Heimpel (1996), um indivíduo com baixas reservas de energia tende a preferir se alimentar do que a procurar um hospedeiro. Deste modo, um parasitoide que obteve acesso a um alimento energeticamente rico logo após sua emergência pode apresentar uma vantagem competitiva na busca de seu hospedeiro, uma vez liberado em campo. Desta forma, este é um aspecto importante a ser investigado, com vistas ao aumento da eficiência de liberações de *T. radiata* para controle de *D. citri*.

3.3.5 Validação do modelo de exigências térmicas para *T. radiata* e *D. citri*.

Tanto para *D. citri*, quanto para *T. radiata*, quando avaliados no período de verão, obteve-se um bom ajuste ao valor previsto nos modelos realizados para duas espécies, uma vez que, segundo Higley, Pedigo e Ostlie (1989), diferenças entre 10 e 15% para modelos de graus dias, são toleráveis para se estimar a ocorrência dos insetos em um sistema de manejo integrado de pragas. No verão, os valores obtidos neste trabalho foram inferiores àqueles estimados no modelo em 1,6 e 5,9%, para *D. citri* e *T. radiata*, respectivamente (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 - Validação do modelo de constante térmica (K) e período de desenvolvimento, estimados e observados para *D. citri* em duas estações do ano, sob condições ambientais

Época	T° média	Constante térmica (GD)			Período de desenvolvimento (dias)		
		Estimado*	Observado	Diferença	Estimado**	Observado	Diferença
Verão	24,2°C	210,91	207,34	-1,6%	19,7	19,2	-2,5%
Inverno	20,6°C		244,71	16,0%	29,7	35,5	19,5%

* Segundo Nava et al (2007). ** Estimado a partir da temperatura média do período.

Durante o inverno entretanto, os resultados de constante térmicas obtidos não validaram o modelo, uma vez que foi verificada uma diferença superior a 15% para

ambas espécies. Os valores observados para *D. citri* e *T. radiata*, nesta estação, foram 244,71 e 252, 78 GD, respectivamente, que correspondem a diferenças de 16,0 e 33,9% em relação aos valores estimados pelo modelo, com variação mais drástica para o parasitoide (Tabelas 6 e 7).

O modelo de exigências térmicas estimado por Nakata (2006) para populações japonesas de *D. citri*, sujeitas à condições climáticas mais amenas, forneceu um valor de constante térmica de 232,26 GD, que difere do valor obtido neste trabalho, para o inverno, em apenas 5,08%.

Tabela 7 - Constante térmica (K) e período de desenvolvimento, estimados e observados, para *T. radiata* em duas estações do ano, sob condições ambientais

Época	T° média	Constante térmica (GD)			Período de desenvolvimento (dias)		
		Estimado*	Observado	Diferença	Estimado**	Observado	Diferença
Verão	22,3°C	188,70	177,52	-5,9%	12,4	11,8	-4,8%
Inverno	19,3°C		252,78	33,9%	14,0	20,7	47,9%

* Segundo Gomez-Torres (2009). ** Estimado a partir da temperatura média do período.

Com relação ao tempo de desenvolvimento durante o inverno, foram verificadas diferenças consideráveis em relação ao período observado e aquele estimado pelo modelo, de 19,5 e 47,9% para *D. citri* e *T. radiata* respectivamente, utilizando-se as temperaturas médias nas quais o trabalho foi realizado. (Tabelas 6 e 7). Tais diferenças observadas, provavelmente devem-se à flutuações ocorrentes na natureza, uma vez que, em trabalhos realizados por Nava et al. (2007) e Gomez-Torres et al. (2012) para *D. citri* e *T. radiata*, respectivamente, com temperaturas constantes semelhantes às temperaturas médias registradas neste trabalho, os períodos de desenvolvimento das duas espécies foi semelhante (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação do período de desenvolvimento de *D. citri* e *T. radiata*, obtidos sob temperatura ambiental durante o inverno e sob temperaturas constantes

	Temperatura média (°C)	Período de desenvolvimento			Diferença
		Obtido	Observado ¹	Observado ²	
<i>D. citri</i>	20,6	35,5	30,9	-	12,9%
<i>T. radiata</i>	19,3	20,7	-	18,8	9,2%

¹Período médio de desenvolvimento de *D. citri* observado por Nava et al. (2007) a temperatura constante de 20°C. ²Período médio de desenvolvimento de *T. radiata* observado por Gomez-Torres et al. (2012) a temperatura constante de 20°C.

Segundo Chien; Chu e Ku (1993) a capacidade de *T. radiata* de adaptação à flutuações das condições ambientais é baixa. De acordo com estes autores, o período médio de desenvolvimento de ovo – adulto, observado durante o inverno, foi de 22,3 dias, superior até ao registrado neste trabalho de 20,7 dias. Embora os autores não citem a temperatura média ambiental durante as observações, afirmam que ocorre uma considerável redução da sobrevivência do parasitoide durante esta estação.

O valor do período médio de desenvolvimento de ovo – adulto observado, por aqueles autores, para o verão (9,2 dias) por outro lado, foi inferior àquele que foi obtido (11,8 dias), durante a mesma estação, neste trabalho.

O desvio da estimativa observado neste trabalho, para *D. citri* no período do inverno, parece ser independente da origem dos insetos, uma vez que Nava et al. (2010) estimou as exigências térmicas do psíldeo, de populações oriundas de duas regiões climaticamente distintas, uma mais quente e outra mais fria, não verificando diferenças significativas nas estimativas para as populações das duas áreas. A validação do modelo, realizada para *Gymnandrosoma aurantianum* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae) também não verificou um bom ajuste para os períodos mais frios do ano (CARVALHO, 2003).

A validação do modelo de exigências térmicas é fundamental, um vez que a partir deste modelo, são realizados trabalhos de zoneamento agroclimático de pragas, como aquele feito por Gomez-Torres (2009) para *D. citri*. Tal validação permite uma maior acurácia deste tipo de trabalho. Desta forma, é recomendável que se realize uma validação em diferentes condições climáticas, ou mesmo, que se proponham fatores de correção, como sugerido por Carvalho (2003). Tal ajuste pode elucidar questões referentes à baixa eficiência de algumas espécies de inimigos naturais, liberados em determinadas localidades, permitindo, deste modo ajustes nas técnicas de manejo de pragas visando uma maior eficiência.

3.4 Conclusões

- *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) apresenta preferência para oviposição em brotações de murta [*Murraya paniculata* (L.)] com tamanho médio variando de 1,0 a 2,6 cm de comprimento;

- *D. citri* apresenta preferência para se alimentar em brotações de murta (*M. paniculata*) com tamanho médio de 4,3 cm de comprimento;
- A viabilidade de ovos, de ninfas e total, bem como a duração da fase de ovo de *D. citri* não foram afetadas pelo hospedeiros, murta (*M. paniculata*) e planta de curry [*Murraya koenigii* (L.) Sprengel]; por outro lado, as durações da fase ninfal e total foram maiores em murta que em plantas de curry;
- Em teste com chance de escolha, *D. citri* apresenta preferência para oviposição e alimentação em plantas de murta (*M. paniculata*) em relação a plantas de curry (*M. koenigii*);
- Em teste sem chance de escolha não é verificada diferença quanto a oviposição de *D. citri* em relação à plantas de murta (*M. paniculata*) e plantas de curry (*M. koenigii*);
- Plantas de curry (*M. koenigii*) se mostram como hospedeiro adequado ao desenvolvimento completo do psíldeo, podendo, quando necessário, substituir a murta (*M. paniculata*) para criação de *D. citri*;
- A faixa de umidade relativa entre 60 e 80% é adequada para emergência de *T. radiata* em ramos de murta (*M. paniculata*) destacados, uma vez que não difere da emergência obtida quando se utilizam plantas intactas;
- A umidade relativa abaixo de 60% e acima de 80% afeta a emergência de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), quando utilizados ramos de murta (*M. paniculata*) destacados;
- A utilização de ramos de murta destacados para obtenção de *T. radiata*, permite um aumento no rendimento da coleta de parasitoides em até cinco vezes;
- O fornecimento de água, mel + pólen, mel + levedura ou mel para adultos de *T. radiata*, não afeta sua longevidade, bem como seu parasitismo sobre ninfas de *D. citri*;

- Os modelos de exigências térmicas estimados para *D. citri* e *T. radiata*, são válidos para temperaturas médias mais elevadas.

Referências

AUBERT B. *Trioza erythrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera : Psyllodea), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v. 42, p. 149–162, 1987.

AUBERT. B. Integrated activities for the control of Huanglongbing – greening and its vector *Diaphorina citri* Kuwayama in Asia. In: INTERNATIONAL ASIA PACIFIC CONFERENCE ON CITRUS REHABILITATION, 1990, Chiang Mai. **Proceedings...** Chiang Mai: Fao-Undp, 1990. p. 133-144.

BONANI, J.P. **Caracterização do aparelho bucal e comportamento alimentar de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.** 2009. 83p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BUCKNER, J.S.; HENNEBERRY, T.J.; FREEMAN, T.P.; RUUD, R.L.; CHU, C.C. Characterization and Functions of the Whitefly Egg Pedicel. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, Hoboken, v. 49, n. 1, p. 22–33, 2002.

CARVALHO, D.R. **Comparação de métodos de monitoramento e controle do bicho furão, *Ecdytolopha aurantiana* (Lima, 1927) (Lepidoptera: Tortricidae), em citros.** 2003. 38p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo , Piracicaba, 2003.

CATLING, H.D. The bionomics of the South African citrus psylla. *Trioza erythrae* (Del Guercio) (Homoptera: Psyllidae) 5. The influence of host plant quality. **Journal of Entomological Society of South African**, Pretoria, v. 34, n. 2, p. 381-391, 1971.

CHAKRABORTY, N.K.; PANDEY, P.K.; CHATTERJEE, S.N.; SINGH, A.B. Host preference in *Diaphorina citri* Kuwayama vector of greening disease of citrus in India. **Indian Journal of Entomology**, Nova Deli, v. 38, n. 2, p.196-197, 1976.

CHAKRAVARTHI, V.P.; SAVITHRI, P.; RAJENDRA PRASAD, P.; VENUGOPAL RAO, N. Biology and seasonal abundance of citrus psylla *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). In: NATIONAL SYMPOSIUM OF PEST MANAGEMENT OF HORTICULTURAL CROPS, 1998, Bangalore. **Proceedings...** Bangalore, 1998, p. 26-29.

CHAVAN, V.M. Investigations on citrus psylla, *Diaphorina citri* Ku., a vector of citrus greening disease in Maharashtra. **Journal of Maharashtra Agricultural Universities**, Maharashtra, v. 29, n. 3, p. 290-293, 2004.

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

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I.; KU, H.C. Influence of temperature on the population increase, host killing capability and store of *Tamarixia radiata*. **Chinese Entomological Journal**, Taipei, v. 13, p. 111-123, 1993.

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

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

DAMSTEEGT, V.D.; POSTNIKOVA, E.N.; STONE, A.L.; KUHLMANN, M.; WILSON, C.; SECHLER, A.; SCHAAD, N.W.; BRLANSKY, R.H.; SCHENEIDER, W.L. *Murraya paniculata* and related species as potential hosts and inoculum reservoirs of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" causal agent of Huanlongbing. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 94, n. 5, p. 528-533, 2008.

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

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

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

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

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

HALL, D.G.; RICHARDSON, M.L.; AMMAR, E.D.; HALBERT, S.E. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Chichester, v. 146, p. 207-223, 2012.

HIGLEY, L.G.; PEDIGO, L.P.; OSTLIE, K.R. DEGDAY: a program for calculating degree-days, and assumptions behind the degree-day approach. **Environmental Entomology**, College Park, v. 15, p. 999-1016, 1986.

JERVIS, M.A.; HEIMPEL, G.E.; FERNS, P.N.; HARVEY, J.A.; KIDD, N.A.C. Life-History Strategies in Parasitoid Wasps: A Comparative Analysis of 'Ovigeny'. **The Journal of Animal Ecology**, Chichester, v. 70, n. 3, p. 442-458, 2001.

JERVIS, M.A.; KIDD, N.A.C.; HEIMPEL, G.E. Parasitoid adult feeding behaviour and biocontrol – a review. **Biocontrol News and Information**, Wallingford, v. 17, p. 11-26, 1996.

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**, Sussex, v. 137, p. 201-206, 2000.

MACHADO, S.R.; CARMELLO-GUERRREIRO, S.M. Floema. In: APPEZZATO DA GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERRREIRO, S.M. (Ed.). **Anatomia Vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2006. cap. 6, p. 155 – 162.

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.

McFARLAND, C.D.; HOY, M.A. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and Its Two Parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under Different Relative Humidities and Temperature Regimes. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 84, n. 2, p. 227-233, 2001.

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

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

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

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

PARRA, J.R.P; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J.M.S. Controle biológico: Uma visão inter e multidisciplinar. In: _____ (Ed.). **Controle Biológico no Brasil Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 8, p. 125-137.

PARRA, J.R.P. Criação de inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P; BOTELHO, P.S.M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle Biológico no Brasil Parasitoides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. cap. 8, p. 125-137.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1976. 419p

SINGH, A.; NIMBALKAR, M. *Murraya koenigii* L. and *M. paniculata* L. preferable host of *Diaphorina citri* Kuway. **Science and Culture**, Kolkata, v. 43, n. 2, p. 97-98, 1977.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Crescimento de desenvolvimento. In: _____ (Ed.). **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2002. cap. 16, p. 365 - 400.

TAYLOR, G.S. The Structure Of The Eggs Of Some Australian Psylloidea (Hemiptera). **Journal of Australian Entomological Society**, Richmond, v. 31, p. 109-117, 1992.

TECK, S.L.C.; FATIMAH, A.; BEATTIE, A.; HUENG, R.K.J.; KING, W.S. Influence of Host Plant Species and Flush Growth Stage on the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, New York, v.6, n.4, p.536-543. 2011.

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

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

WU, D. Relationship between the habits of citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, and the occurrence of citrus huanglongbing. **China Citrus**, Pequim, v. 2, p. 33-34, 1980.

4 - MODELO DE UMA CRIAÇÃO MASSAL DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) VISANDO À PRODUÇÃO DE *Tamarixia radiata* (WATERSTON, 1922) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) E SUA ESTIMATIVA ECONÔMICA

Resumo

Diaphorina citri Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), é a praga mais importante das culturas cítricas por ser o vetor das bactérias causadoras do Huanglongbing (HLB). Como não existem medidas curativas para a doença, seu manejo se baseia, principalmente, no controle do vetor. O parasitoide, *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), vem sendo liberado, com bons resultados, para controlar o psíldeo. Para sua utilização, a produção em larga escala é fundamental, o que exige também a criação da praga. O presente trabalho visou propor um sistema de criação de *T. radiata* em larga escala, e estimar o seu custo de produção. O sistema foi proposto visando a obtenção de 100.000 parasitoides/mês, baseando-se na experiência adquirida com a criação das duas espécies, desenvolvida no Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP. A criação de *D. citri* foi desenvolvida em casa de vegetação com reduzido controle das condições ambientais utilizando murta de cheiro [*Murraya paniculata* (L.) Jack], como hospedeiro. Murta foi testada quanto ao número ideal de vezes a ser utilizada no sistema de produção. As plantas foram podadas e quando apresentavam brotações de tamanho adequado foram oferecidas aos psíldeos por sete dias, e após esse prazo, os adultos foram retirados e as plantas mantidas em gaiolas por cerca de 12 dias, tempo necessário para que as ninfas atingissem o 4º ou 5º instares, preferenciais do parasitoide. As plantas, com as ninfas, eram então oferecidas aos parasitoides na razão de 1 parasitoide para 10 ninfas. As gaiolas com as ninfas parasitadas foram mantidas em salas climatizadas a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 70% UR $\pm 10\%$ e com fotofase de 14h. Após dez dias os ramos foram cortados e transferidos para caixas de emergência, nas quais foi realizada a coleta dos parasitoides com utilização de sugador elétrico. Para o custo de produção foi realizada uma tomada de preços de todos os fatores envolvidos no processo produtivo de acordo com o dimensionamento proposto. Determinou-se que plantas de murta, devem ser utilizadas apenas duas vezes visando maior rendimento da criação de *D. citri*. Com o sistema proposto foi possível obter um grande número de psíldeos criados em estufa, apesar as condições ambientais flutuantes. O custo médio estimado para *T. radiata* foi de R\$ 0,20, sendo que as ninfas e a mão de obra corresponderam a mais de 80% deste valor; para *D. citri* o maior componente do custo foi a mão de obra. O custo de uso de *T. radiata* em programa de controle biológico clássico é de R\$ 80,00/ha. Considerando-se uma taxa de liberação de 400 parasitoide/ha seu custo foi compatível com aquele de outras formas de controle, indicando deste modo, a viabilidade de sua utilização no manejo integrado de *D. citri*.

Palavras-chave: Criação massal; *D. citri*; Custo de produção; *T. radiata*; Controle biológico

Abstract

Diaphorina citri Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) is the most important pest of citrus crops, since it is the vector of the Huanglongbing (HLB) bacterium. Because no remedy for the disease is yet available, its management is based principally on controlling the vector. The parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) is being released, with good results, to control this psyllid. Large-scale production of the parasitoid is essential, which also requires rearing the pest. The present research aimed to develop a system for rearing *T. radiata*, and to estimate the cost of its production. The system was proposed in order to obtain 100,000 parasitoids per month, based on experience with rearing the two species acquired in the Department of Entomology and Acarology of ESALQ/USP. *D. citri* was reared in a greenhouse with minimal control of environmental conditions, using orange jasmine [*Murraya paniculata* (L.) Jack] plants as hosts. Orange jasmine was tested to determine the ideal number of times use the plants in the production system. The plants were pruned, and when they reached an appropriate size, were offered to the psyllids for seven days. After that time, the adults were collected and the plants kept in cages for about 12 days, the period needed for the nymphs to reach the 4th and 5th instars. Plants with nymphs were offered to the parasitoids at a ratio of 1 parasitoid to 10 nymphs. Cages with parasitized nymphs were kept in incubators at 25°C ± 2°C, 70% RH ± 10%, and a 14-h photophase. After 10 days the branches were cut from the plants and transferred to emergence boxes, from which the adult parasitoids were collected with the use of an electric aspirator. The production cost was estimated by taking into account all the factors involved in the production process, according to the proposed dimensions. It was determined that orange jasmine plants must be used only twice in the process, in order to maximize production of *D. citri*. This system made it possible to obtain large numbers of greenhouse-reared psyllids, despite the fluctuating environmental conditions. The estimated mean cost for *T. radiata* was R\$ 0.20, of which nymphs and labor comprised up to 80%. For *D. citri* the major cost component was labor. The cost of using *T. radiata* in classical biological control programs is R\$80.00/ha. Considering a rearing rate of 400 parasitoids/ha, this cost is compatible with those of other control methods, thus indicating that it is practical to use in integrated management of *D. citri*.

Keywords: Mass rearing; *T. radiata*; Biological control; Insect production cost

4.1 Introdução

Programas de controle biológico aumentativo ou aplicado envolvem a criação de inimigos naturais em grandes quantidades e a sua consequente liberação com o objetivo de promover uma rápida redução da população de pragas (DEBACH; ROSEN, 1991). Segundo Lenteren (2012), 230 espécies de inimigos naturais estão disponíveis comercialmente para uso e cada uma delas é produzida de acordo com metodologias de criação própria, as quais normalmente não são de domínio público.

De acordo com Parra (2002), a eficiência na criação de inimigos naturais permite uma maior utilização do controle biológico e está relacionada ao uso de técnicas de produção em larga escala e à redução dos custos.

A criação de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) é realizada exclusivamente sobre ninfas do psíldeo, *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), dependendo portanto, de uma eficiente produção do hospedeiro para se obter uma criação economicamente viável do inimigo natural.

A primeira metodologia para produção de *D. citri* e *T. radiata* foi estabelecida por Skeley e Hoy (2004) utilizando-se plantas de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack] como hospedeiro, pois esta espécie de planta é considerada o hospedeiro preferencial de *D. citri* (AUBERT, 1987). Segundo Nava et al. (2007) comparando-se duas variedades de *Citrus* com murta, esta espécie proporcionou os melhores parâmetros de desenvolvimento para o psíldeo.

A metodologia estabelecida por Skeley e Hoy (2004) propôs uma criação realizada exclusivamente em salas climatizadas, o que, embora permita um maior controle do desenvolvimento das espécies e seja ideal para realização de pequenos experimentos, torna muito oneroso um sistema destinado à produção de um grande número de indivíduos.

Em condições brasileiras, Gomez-Torres (2009) estabeleceu um sistema de criação de *D. citri* adaptado daquele utilizado para produção de *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae) para criação de *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) proposto por Chagas et al. (2002), utilizando-se, no trabalho em salas climatizadas, inicialmente tubetes com mudas de citros e, posteriormente, mudas de murta como hospedeiro do psíldeo, em gaiolas de acrílico.

Uma vez que *T. radiata* vem apresentando resultados promissores em diversas partes do mundo para o controle de *D. citri*, houve também a necessidade de se avaliar sua eficiência em condições brasileiras. Para tanto, foi preciso implantar um sistema de criação do parasitoide em larga escala. De acordo com Bolckmans (2007), um dos maiores desafios do controle biológico está na necessidade de se alcançar a eficiência econômica, porém mantendo-se a qualidade dos agentes de controle produzidos.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer uma criação em larga escala de *D. citri* para uma produção, com qualidade, de seu parasitoide, *T. radiata*, e realizar sua estimativa de custo considerando-se a obtenção de 100.000 parasitoides/mês, de modo a verificar a viabilidade econômica de seu uso como componente em um programa de manejo integrado de pragas (MIP) na cultura dos citros.

4.2 Material e métodos

4.2.1 Manutenção das plantas de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack]

As mudas de murta foram adquiridas de viveiristas profissionais, de modo a manter o padrão de qualidade das mesmas.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação (Figura 1) com irrigação automatizada e acionada duas vezes ao dia, e com sombreamento de 50 % uma vez que, de acordo com Arrigoni-Blank et al. (2003) esta taxa de sombreamento promove uma maior brotação e vigor em plantas de murta.

A fertilização foi realizada quinzenalmente com aplicação foliar de solução a 1% de adubo Peters® (NPK 20-20-20).

A ocorrência de pragas como pulgões, cochonilhas, ou mesmo a presença de *D. citri* (indesejada neste local) foi mantida sob controle com aplicação de solução de detergente neutro a 10%, uma vez que o uso de inseticidas ou óleo

Figura 1 - Casa de vegetação para manutenção de plantas de murta (*M. paniculata*) para criação de *D. citri*

mineral, conforme recomendado por Skeley e Hoy (2004) inviabiliza a utilização da planta por muitos dias devido ao seu período residual.

4.2.1.1 Determinação do número de ciclos de utilização (podas) das mudas de murta na criação de *D. citri*

Plantas de murta recém adquiridas foram podadas, mantidas em casa de vegetação, e assim que as brotações atingiram o tamanho adequado (ver item 3.3.1), estas foram contadas, assim como o número de ramos. Foi então instalada uma gaiola com seis plantas e 300 adultos de *D. citri* em idade reprodutiva [cerca de 15 dias (NAVA et al., 2007)], sendo estes adultos mantidos, por sete dias, para oviposição e a seguir, retirados. A partir do início da emergência dos adultos, estes foram coletados e contados. As plantas foram podadas, fertilizadas e após o início das brotações, estas foram também contadas e o processo repetido, por quatro ciclos de desenvolvimento do psílídeo.

Foram instaladas 20 repetições. Os dados de número de brotações foram transformados para raiz (x) e os de número de insetos para $\log_{10}(X)$ e submetidos à análise de variância e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.2 Metodologia de criação de *D. citri*.

No presente trabalho, em função da grande quantidade de insetos produzida, decidiu-se desenvolver a criação do psílídeo em casa de vegetação com baixo controle das condições ambientais, de modo a reduzir os custos em relação àqueles referentes à uma criação realizada em laboratório. Para as gaiolas optou-se por utilizar um modelo construído com tela antiafídeo de abertura de 0,87 mm, de modo que restringisse a saída dos psílídeos e entrada de parasitoides, mas permitisse uma relativa circulação de ar. As gaiolas foram dimensionadas em forma de cubo com 47 cm de lado e possuíam estrutura tubular de polipropileno para sustentar sua forma. Elas foram assim projetadas de modo que duas delas ocupassem toda largura de uma bancada padrão da casa de vegetação que possui 100 cm de largura (Figura 2). Cada gaiolas continha uma bandeja de polipropileno (45 x 36 x 7 cm), suficiente para acomodar seis plantas de murta com 40 cm de altura, em média, em recipientes com 15 cm de diâmetro.

Em cada gaiola foram colocados 300 adultos de *D. citri* em idade reprodutiva (em torno de 15 dias), o que corresponde a cerca de quatro adultos/brotação, semelhante à densidade escolhida por Skeley e Hoy (2004) de três adultos/brotação.

Baseando-se nos resultados apresentados no item 3.3.1, as plantas foram oferecidas aos insetos quando as brotações apresentavam tamanho médio de 2,6 cm, de modo a maximizar a quantidade de ovos colocados pelo psílídeo.

Estabeleceu-se um período de sete dias em que as murtas foram disponibilizadas aos insetos para oviposição, após os quais os adultos foram retirados e transferidos para novas gaiolas. Este prazo foi definido em função da dinâmica do trabalho, de modo que todas as gaiolas fossem submetidas ao mesmo tempo de oviposição, considerando-se uma manutenção diária das mesmas.

A coleta dos adultos foi realizada por meio de um sugador elétrico, com quatro entradas e controle do fluxo de ar (Figura 3).

Figura 2 - Gaiolas utilizadas para criação de *D. citri* em casa de vegetação sobre bancada (8x1m)

Figura 3 - A) Sugador de insetos elétrico, com quatro pistolas de sucção e regulação da pressão de ar. B) Pistola de sucção, com gatilho e regulação da pressão de ar

As gaiolas tem duas destinações básicas; manter a própria criação de *D. citri* e fornecer ninfas para produção de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae). Aquelas destinadas à criação eram apenas mantidas na mesma estufa para desenvolvimento até a fase adulta do psilídeo, o que ocorre em cerca de 18 dias, quando a temperatura ambiente se mantém numa média de 25°C. Aquelas destinadas à produção do parasitoide também eram mantidas na estufa, mas por apenas 12 dias, tempo necessário para que a maioria das ninfas atingisse o 4º ou 5º ínstar, estádios preferenciais para parasitismo por *T. radiata*.

4.2.3 Metodologia de criação de *T. radiata*.

A criação do parasitoide foi mantida em salas climatizadas com fotoperíodo controlado (25°C e 14:10 L:E), uma vez que Gomez-Torres (2009) determinou que a temperatura ideal para desenvolvimento, bem como o limite térmico superior de *T. radiata* eram menores do que aqueles estabelecidos para *D. citri*, e portanto, o parasitoide não suportaria altas temperaturas que ocorrem em casa de vegetação, apesar de sistema de arrefecimento. A manutenção em salas climatizadas também permitiu um maior controle da criação.

As gaiolas de criação do parasitoide possuem estrutura de alumínio, e as partes superior e de frente eram fechadas com poliestireno cristal (4mm espessura), para permitir uma boa passagem de luz e melhor visualização dos parasitoides, e possui tela antiafídeo nos demais lados (0,87 mm de abertura) (Figura 4). As gaiolas

possuem dimensões de 97 x 45 x 45 cm (comprimento x largura x altura) suficiente para que as mesmas se acomodem em prateleiras metálicas para sua melhor disposição nas salas de criação.

Cada prateleira possui três divisões, cada uma delas com sistema de iluminação próprio para cada gaiola, constituído de quatro lâmpadas fluorescentes com potência de 20 watts cada.

Em cada gaiola foram colocadas duas bandejas do mesmo tipo da criação do psilídeo e, deste modo, acomodadas 12 plantas com ninfas de *D. citri*. Foi fornecida uma mistura de mel e pólen (2:1) para alimentação suplementar dos parasitoides pois, de acordo com Jervis, Kidd e Heimpel (1996) esta alimentação melhora a busca e longevidade do parasitoide.

Foi realizada uma estimativa da quantidade de ninfas nas plantas de murta com objetivo de dimensionar a quantidade de parasitoides a ser colocada em cada gaiola. Parasitoides, com cerca de 24 horas de idade, foram liberados na taxa de um para cada dez ninfas de *D. citri*, permanecendo na gaiola até a morte.

Para facilitar a coleta dos parasitoides foi utilizada, neste trabalho, uma caixa de emergência (item 3.2.2.1). Assim, em 10 dias [uma vez que em cerca de 12 dias a 25° C, inicia-se a emergência segundo Skeley e Hoy (2004)] os ramos contendo as ninfas parasitadas foram cortados e transferidos para caixas de emergência (Figura 5). O interior da caixa foi aspergido com água diariamente a fim de manter a umidade relativa interna na faixa de 60 a 80% (item 3.3.3).

Com a emergência dos parasitoides, estes foram coletados, também com sugador automatizado, o mesmo utilizado para *D. citri* (Figura 3), e destinados à liberação em campo.

Figura 4 - Gaiola de poliestireno cristal, utilizada na criação de *T. radiata*.

Estes parasitoides foram acondicionados em tubos de vidro (200 insetos em cada vidro) com uma polegada de diâmetro e sete centímetros de altura contendo solução de mel e polén (2:1) para alimentação dos adultos. Estes insetos foram mantidos em câmara climatizada com temperatura de 18°C até o transporte para o campo, realizado em caixas

Figura 5 - Caixa de emergência de *T. radiata*, mostrando parte externa com recipiente de coleta na parte superior, e parte interna mostrando prateleiras contendo ramos de murta destacados com ninfas parasitadas sobre papel absorvente

térmicas de poliestireno expandido contendo gelo na parte inferior para manutenção de temperaturas mais baixas. A liberação sempre foi realizada no começo da manhã ou no final da tarde, para evitar condições de temperatura alta e baixa umidade relativa, que poderiam prejudicar os parasitoides.

4.2.4 Dimensionamento do sistema de criação

Para o dimensionamento da criação em larga escala, levou-se em consideração características biológicas de *D. citri* e de *T. radiata* e a metodologia descrita nos itens 4.2.2 e 4.2.3., com objetivo de uma produção mensal de 100.000 parasitoides, o que corresponde a 5.000 indivíduos por dia, considerando-se um período de 20 dias úteis por mês.

A partir destes parâmetros foi determinado o número necessário de itens essenciais, ou seja, aqueles que são imprescindíveis à criação conforme planejada, tamanho de laboratórios e estufas, quantidade de gaiolas para duas espécies, número de plantas e funcionários (Tabela 1).

Tabela 1 - Relação de itens essenciais à criação de *D. citri* para produção de *T. radiata*, dimensionados para uma produção de 100.000 parasitoides/ mês

Item	Unidade	Quantidade
Gaiola para produção de <i>D. citri</i>	unitário	264
Gaiola para produção de <i>T. radiata</i>	unitário	60
Caixas de emergência para produção de <i>T. radiata</i>	unitário	45
Plantas de murta	unitário	6912
Estufa de manutenção de plantas	m ²	153
Estufa de produção de <i>D. citri</i>	m ²	145
Laboratório para produção de <i>T. radiata</i>	m ²	67,2
Estantes para produção de <i>T. radiata</i>	unitário	25
Funcionários	unitário	3
Gerente	unitário	1

4.2.5 Cálculo dos custo de implantação e manutenção do sistema

Todos os itens necessários à implantação e ao funcionamento da criação de *D. citri* e de *T. radiata* foram quantificados em função da produção desejada. Seus custos foram tomados a partir de valores de mercado praticados na região de Piracicaba/SP no mês de Abril de 2013. Os recursos se dividem em duas categorias de custo: fixo e variável.

Os custos fixos correspondem aos itens utilizados no processo produtivo que não são incorporados ou consumidos inteiramente em um ciclo de produção, mas sim em vários ciclos, conforme sua vida útil. Os custos variáveis correspondem aos itens que são consumidos no período produtivo. Cada ciclo é o tempo necessário para obtenção de uma unidade do produto avaliado (um psilídeo ou um parasitoide neste caso).

A partir do acompanhamento das atividades desenvolvidas na criação em menor escala, foi possível estimar o tempo e número de pessoas necessários à produção na escala desejada neste trabalho.

A estimativa de custo de produção de *T. radiata* dentro dos parâmetros desejados neste trabalho foi realizada de acordo com metodologia de Mendes et al. (2005).

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Tempo de utilização das plantas de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack]

Foi verificada uma redução no número médio de brotações por planta de murta após o 4º ciclo de desenvolvimento de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae). Por outro lado, o número médio de insetos obtidos por gaiola de produção variou a cada ciclo, sendo crescente no início, com maior média verificada no segundo ciclo (poda), ocorrendo um decréscimo a partir daí (Tabela 2).

Tabela 2 - Número médio de ramos e brotações por planta de murta e número médio de adultos de *D. citri* por gaiola, obtidos após quatro ciclos de desenvolvimento do inseto sobre as plantas*

Ciclos de desenvolvimento de <i>D. citri</i>	Nº de ramos	Nº de brotações	Nº de insetos/gaiola
1º	4,03 ± 0,09 a	11,13 ± 0,25 a	1196,3 ± 131,3 b
2º	4,03 ± 0,09 a	11,00 ± 0,26 a	1879,4 ± 148,4 a
3º	4,03 ± 0,09 a	11,91 ± 0,28 a	453,8 ± 62,8 c
4º	3,73 ± 0,08 a	9,51 ± 0,21 b	167,5 ± 13,3 d

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Dados de nº de brotações foram transformados para $\text{raiz}(x)$ e dados de nº de insetos para $\log_{10}(x)$.

Portanto, após o 2º ciclo, o número médio de insetos obtidos por gaiola foi reduzido significativamente, representando menos de 25 e 8% do maior valor obtido, no 3º e 4º ciclos, respectivamente. Embora não informem os critérios levados em consideração, Skeley e Hoy (2004) recomendam a utilização das plantas de murta por apenas quatro ciclos de desenvolvimento do psílídeo.

O desenvolvimento de grandes populações de *D. citri* sobre as plantas de murta promove um rápido depauperamento das mesmas, por meio da sucção de seiva, e da deposição de secreções que facilitam o aparecimento de fumagina, comprometendo assim sua capacidade fotossintética. Isto promove uma contínua queda de folhas e consequente morte de ramos (Figura 6). Segundo Skeley e Hoy (2004) a poda repetida das plantas de murta faz com que as novas brotações não se desenvolvam completamente, sequem e caiam.

Embora tenha se determinado que plantas de curry [*Murraya koenigii* (L.) Sprengel] podem substituir plantas de murta para produção de *D. citri*, (item 3.3.2), considerando-se a produção desejada, aquela espécie não é recomendada, pois suas mudas custam quatro vezes mais do que as mudas de murta.

Deste modo, no sentido de maximizar a produção dos insetos, recomenda-se a utilização da mesma planta de murta apenas duas vezes no sistema de criação de *D. citri*.

Figura 6 - A) Planta de murta ainda não utilizada na criação de *D. citri*, B) Planta de murta após quatro ciclos de desenvolvimento de *D. citri*

4.3.2 Avaliação dos aspectos biológicos e operacionais referentes à implantação da criação das duas espécies.

De uma gaiola de *D. citri*, conforme descrito no item 4.2.2, com seis plantas de murta e 300 adultos de *D. citri* ovipositando por sete dias é possível se obter, pelo menos, 1000 ninfas de 4º - 5º instares do psíldeo, em cerca 12 dias, de acordo com resultados apresentados em 4.3.1.

Em uma gaiola de produção do parasitoide com cerca de 2000 ninfas (12 plantas infestadas, como descrito em 4.2.2) obtém-se, no mínimo, 60% de parasitismo de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), embora Gomez-Torres et al. (2012), nas mesmas condições, tenha obtido 84,7% de parasitismo, preferiu-se considerar o menor valor para segurança de se conseguir a quantidade estabelecida. Deste modo, é possível obterem-se cerca de 1200 parasitoides/gaiola.

A criação em larga escala de *T. radiata* sobre *D. citri*, como descrita, necessita da produção mensal de mais de 200.000 ninfas de 4º - 5º instares e 40.000 adultos do psíldeo para obtenção dos 100.000 parasitoides (Figura 6).

Segundo Parra (2002) dentre as definições de uma criação massal, está aquela que a caracteriza a produção de insetos com o mínimo de homens/hora, de espaço, e no menor tempo possível. A quantidade de funcionários aqui proposta

(quatro) foi dimensionada baseando-se na experiência do acompanhamento da criação já instalada e visando atender os critérios relatados por aquele autor.

Os modelos prévios de produção de *T. radiata* (SKELLEY, HOY, 2004; GOMEZ-TORRES, 2009) propõem a criação de *D. citri* em laboratório sob condições controladas, pois se destinavam à pesquisas experimentais. Por outro lado, quando se necessita de maiores quantidades de insetos de modo sistemático, a produção em laboratório se torna muito onerosa, comprometendo os custos de um projeto de liberação de inimigos naturais.

Por outro lado, os resultados obtidos com utilização dos ramos destacados com ninfas parasitadas (item 3.3.3) se mostrou como grande avanço na produção dos parasitoides uma vez que permitiu uma economia de tempo e maior rendimento, atendendo deste modo ao estabelecido por Singh (1982) de que a economia de tempo é um dos fatores essenciais para produção de insetos em larga escala.

A utilização da brotação de murta no tamanho preferencial aos insetos (item 3.3.1), assim como a utilização das mudas pelo número de ciclos adequado, permite um maior rendimento da criação, otimizando o sistema.

A estufa de criação do psílideo apesar do seu sistema de arrefecimento, programado para manter a temperatura interna entre 25 e 28°C, apresentava, mesmo que por alguns instantes, nos dias mais quentes, picos de temperatura que atingiram mais de 40°C. Segundo Nava et al. (2007) sob temperatura constante de 32°C a viabilidade total de *D. citri* foi de apenas 5,7%. As condições flutuantes da casa de vegetação pareceram não afetar a criação, uma vez que, foi possível obter, da forma descrita, de 700 a 1000 adultos do psílideo por gaiola, tendo ocorrido picos de produção de mais de 4500 insetos adultos por gaiola.

Do ponto de vista de uma criação comercial em larga escala, uma estufa, como proposta, é economicamente mais viável em comparação a um laboratório dimensionado para o mesmo tamanho, uma vez que o custo de construção, por metro quadrado, de uma estufa, como descrita, é 30% do valor do metro quadrado de um laboratório.

Figura 7 - Esquema geral da criação de *D. citri* para produção de *T. radiata* em larga escala, sendo a criação do psíldeo em casa de vegetação e a do parasitoide em laboratório a 25°C ± 2°C, UR 70% ± 10% e fotofase de 14 h

4.3.3 Aspectos financeiros

4.3.3.1 Custo total de implantação

O custo total estimado para implantação do sistema de criação de *T. radiata*, como proposto, foi de R\$ 332.294,00 (Tabela 1).

Tabela 1 - Estimativa de custo dos itens para implantação da criação de *T. radiata* e de *D. citri* visando uma produção de 100.000 parasitoides/ mês.

Criação / itens	Valor (R\$)	%*
<i>Criação de D. citri</i>		
Estufa de criação de insetos	64.789,00	19,50
Estufa de manutenção de plantas	49.148,00	14,79
Equipamentos (sugador)	4.500,00	1,35
Materiais gerais (gaiolas, bandejas, etc)	49.638,00	14,94
Total parcial	168.074,00	50,58
<i>Criação de T. radiata</i>		
Laboratório	100.800,00	30,33
Equipamentos (câmara, estantes, lupa, etc)	23.400,00	7,04
Materiais gerais	40.020,00	12,05
Total parcial	164.220,00	49,42
Total geral	332.294,00	100

* % referente ao total geral.

O custo total dividiu-se de forma praticamente equalitária para as criações do parasitoide e seu hospedeiro, sendo que os itens referentes às construções foram aqueles que mais oneraram o valor final para as duas criações, correspondendo à 19,50 e 30,33% para *D. citri* e *T. radiata*, respectivamente (Tabela 1).

O sistema de criação foi proposto considerando-se a não existência de nenhuma construção, sendo todos os valores de itens novos. Uma vez que a produção de *T. radiata* em larga escala, é de maior interesse para órgãos governamentais, cooperativas de produtores ou mesmo grandes empresas do setor, nada impede que tais instalações sejam aproveitadas de construções já existentes, adaptadas para os devidos fins. Tal fato poderia reduzir consideravelmente o custo de implantação da produção do parasitoide.

4.3.3.2 Custo de produção médio

De acordo com os cálculos, o custo de produção médio foi de R\$ 0,20 por indivíduo de *T. radiata*, de acordo com o dimensionamento proposto. Este valor cobre todos os recursos aplicados, os custos variáveis, aqueles que são gastos durante um ciclo de produção, como insumos, energia e salários; e os custos fixos, que são a remuneração pelo capital aplicado na atividade na forma de construções e equipamentos, em função de sua depreciação.

As ninfas de *D. citri*, entraram no cálculo do custo de produção do parasitoide como insumo, que é consumido a cada ciclo de produção (Tabela 2). Assim, o valor referente às ninfas representa pouco mais de 50% do custo total do parasitoide.

A criação de *T. radiata* é manual e trabalhosa devido à necessidade de se criar o seu hospedeiro sobre plantas. O custo dos funcionários é um dos maiores obstáculos ao aumento da eficiência de processo produtivo de inimigos naturais (PARRA, 2002), ainda segundo este autor, uma das formas de se reduzir os custos com mão de obra, é o emprego de dietas artificiais. Não foi verificada ainda nenhuma pesquisa referente à possibilidade de criação *in vitro* ou utilização de hospedeiros alternativos (de produção mais fácil) para *T. radiata*. Para *D. citri*, embora Hall et al. (2010) tenham obtido uma sobrevivência de mais de 90% para adultos alimentados em solução de sacarose, não foi verificada, ainda, a oviposição do psíldeo em meios artificiais.

Tabela 2 - Custos fixos, variáveis e custo total da produção de *T. radiata*, considerando uma produtividade de 100.000 parasitoides/ mês, com as respectivas porcentagens na participação do custo total

Custos fixos e variáveis		Valor (R\$)	%*
Custos fixos	Laboratório	537,16	3,77
	Equipamentos	139,90	0,98
	Demais materiais	478,31	3,35
	Custo fixo total	1.155,35	8,10
Custos variáveis	Mão de obra	4.863,40	34,09
	Ninfas	7.200,00	50,47
	Despesas gerais (energia, água, etc)	1.046,68	7,34
Custo variável total		13.110,08	91,90
Custo total		14.265,43	100

* % sobre o custo total.

O valor referente à mão de obra vem em segundo lugar (34,09%) como item que mais onera a produção de *T. radiata*, confirmando o estabelecido por Parra (2002) de que o valor gasto com funcionários é um dos mais altos num processo de produção de inimigos naturais, representando de 70 a 80% do custo total. Tal fato, se torna mais evidente para o custo de produção de *D. citri*, no qual a mão de obra representa 76,61% do custo total (Tabela 3).

Tabela 3 - Custos fixos, variáveis e custo total da produção de *D. citri*, visando uma produção de 100.000 *T. radiata*/ mês, com as respectivas porcentagens na participação do custo total.

Custos fixos e variáveis		Valor (R\$)	%*
Custos fixos	Estufas	626,85	6,58
	Equipamentos	31,41	0,33
	Demais materiais	754,02	7,92
Custo fixo total		1.412,28	14,83
Custos variáveis	Mão de obra	7.295,09	76,61
	Despesas gerais (energia, água, etc)	814,87	8,56
Custo variável total		8.109,96	85,17
Custo total		9.522,24	100

* % sobre o custo total

Considerado o Controle Biológico Clássico, o mais utilizado para *T. radiata* até hoje, o custo por hectare, baseando-se no presente trabalho, é de R\$ 80,00 com uma liberação de 400 parasitoide por unidade de área.

O valor de R\$ 80,00/ha é superior a valores de inimigos naturais utilizados em programas de Controle Biológico Aplicado no Brasil como uso de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae) para cana de açúcar ou *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) para diversas culturas, que oscilam entre R\$ 25,00 e R\$ 60,00/ha (VASCONCELOS, 2012).

Belasque Jr. et al., (2010a) apresentam o custo/ha da aplicação de uma série de inseticidas utilizados para o controle de *D. citri*, variando de R\$ 51,50 a R\$ 427,84/ha. Assim, o valor aqui estimado para utilização de *T. radiata* se mostra financeiramente compatível com outras técnicas já adotadas pelos produtores.

Segundo Belasque Jr. et al., (2010b), em regiões com baixa fonte de inóculo de HLB, um nível populacional de *D. citri* pode ser tolerado nos pomares, desde que não existam pontos de contaminação próximos. Nestas áreas o manejo poderia ser

realizado, também com o parasitoide, trazendo deste modo, vantagens do ponto de vista ambiental.

Ainda segundo aqueles autores, qualquer tratamento químico, para controle do psílídeo, por si só não é capaz de conter completamente o avanço da infecção por HLB no pomar, tornando-se necessária a utilização do manejo integrado de *D. citri*, com utilização de outros componentes, dentre os quais a utilização do controle biológico com *T. radiata* se mostra economicamente viável.

4.4 Considerações gerais

- Recomenda-se a utilização de plantas de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack] como hospedeiro de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) por apenas dois ciclos de desenvolvimento do inseto;
- A produção de *D. citri* em ambiente (casa de vegetação) com baixo controle da condições ambientais é viável e permite a obtenção de um grande número de insetos;
- O custo de implantação de uma criação de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), dimensionada para obtenção de 100.000 parasitoides/mês, como proposta, é de R\$ 332.294,00;
- O custo médio de produção estimado para *T. radiata* é de R\$ 0,20 por parasitoide, considerando-se o sistema proposto, e este valor cobre todos os recurso investidos no sistema de criação;
- O componente de maior participação no custo de *T. radiata*, é referentes às ninfas de *D. citri* como hospedeiro, seguido pelo custo referente à mão de obra;
- O componente de maior participação no custo de *D. citri* é referente à mão de obra correspondendo a 76,6% do custo total;

- O custo da produção de *T. radiata* para uso em um programa de controle biológico clássico é de R\$ 80,00/ha, considerando-se o sistema de produção do parasitoide aqui proposto.

Referências

ARRIGONI-BLANK, M.F.; CARVALHO FILHO, J.L.S.; BLANK, A.F.; SANTOS NETO, A.L. Efeitos do substrato e luminosidade na emergência e desenvolvimento de mudas de jasmim-laranja (*Murraya exotica* L.). **Revista Ciência Agrônômica**, Aracaju, v. 34, n.1, p. 5-12, 2003.

AUBERT, B. *Trioza erytreae* (Del Guercio) and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera, Psyllodea), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v. 42, n.3, p. 149-162, 1987.

BELASQUE JR, J.; BASSANEZI, R.B.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; TACHIBANA, A.; VIOLANTE, A.R.; TANK Jr, A.; GIORGI, F.; DI TERSI, F.E.A.; MENEZES, G.M.; DRAGONE, J.; JANK Jr, R.H.; BOVÉ, J.M. Lessons from huanglongbing management in São Paulo state, Brazil. **Journal of Plant Pathology**, Pisa, v. 92, n. 2, p. 285-302, 2010a.

BELASQUE JR., J.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; BASSANEZI, R.B.; AYRES, A.J.; BOVÉ, J.M. Controle do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n. 1, p. 53-64, 2010b.

BOLCKMANS, K.J.F. Reliability, quality and cost: challenges of commercial natural enemy production. In: MEETING OF THE WORKING GROUP ARTHROPOD MASS REARING AND QUALITY CONTROL, 11., 2007, Montreal. **Proceedings...** Montreal, 2007. v. 3, p. 8-11.

CHAGAS, M.C.; PARRA, J.R.P.; MILANO, P.; NASCIMENTO, A.M.; PARRA, A.L.G.C.; YAMAMOTO, P. *Ageniaspis citricola*: Criação e estabelecimento no Brasil, In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil**. São Paulo: Manole, 2002. p. 377-391.

DEBACH, P.; ROSEN, D. Maximizing biological control through research. In: _____. **Biological control by natural enemies**. Cambridge: University of Cambridge, 1991. p. 259-302.

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

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

HALL, D.G.; SHATTERS, R.G.; CARPENTER, J.E.; SHAPIRO, J.P. Research toward an artificial diet for adult asian citrus psyllid. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 103, n. 4, p. 611-617, 2010.

JERVIS, M.A.; KIDD, N.A.C.; HEIMPEL, G.E. Parasitoid adult feeding behaviour and biocontrol – a review. **Biocontrol News and Information**, Wallingford, v. 17, p. 11-26, 1996.

MENDES, S.M.; BUENO, V.H.P.; CARVALHO, L.M.; REIS, R.P. Custo da produção de *Orius insidiosus* como agente de controle biológico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 5, p. 441-446, 2005.

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

LENTEREN, J.C. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but frustrating lack of uptake. **BioControl**, Amsterdam, v. 57, p. 1-20, 2012.

PARRA, J.R.P. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, P.S.M.; CORREA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 143-164.

SINGH, P. The rearing of beneficial insects. **New Zeland Entomologist**, Nelson, v. 7, n. 3, p. 304-310, 1982.

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.

VASCONCELOS, Y. Inseto contra inseto. **Revista Pesquisa Fapesp**, São Paulo, v. 195, p. 68-73, 2012.

5 - ESTABELECIMENTO DE *Tamarixia radiata* (WATERSTON, 1922) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) SOBRE *Diaphorina citri* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: LIVIIDAE) APÓS LIBERAÇÕES INOCULATIVAS NO ESTADO DE SÃO PAULO

Resumo

Diante dos grandes problemas causados pelo huanglongbing (HLB) nos pomares de citrus ao redor do mundo, diversas formas de controle vêm sendo buscadas. Atualmente, o manejo da doença se baseia em três pontos fundamentais; plantio de mudas sadias e certificadas, controle do vetor, o psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e erradicação de plantas doentes. Além do controle químico, o manejo da praga pode ser realizado com utilização de inimigos naturais, principalmente o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), que já foi usado com sucesso em algumas ilhas, onde existem culturas cítricas. O objetivo deste trabalho foi verificar o estabelecimento e a eficiência de liberações inoculativas de *T. radiata*, em pomares sob aplicação de inseticidas, e pomares sem manejo químico, sobre a redução da população da praga. Foram selecionados, pomares que realizavam manejo intenso, com aplicação de inseticidas químicos e pomares sem aplicação de inseticidas, além de áreas com murta (*Murraya paniculata*), um dos seus principais hospedeiros. Foi realizada, em cada área, uma amostragem de 60 ramos com brotações, que eram trazidos para o laboratório, e avaliados sob microscópio estereoscópico, para se verificar a infestação de *D. citri*, bem como a presença ou não do parasitoide. Foram então liberados 400 parasitoides/ha, e a cada 15 dias foi realizado um novo levantamento, bem como uma nova liberação. Foram contadas o número de ninfas de quarto e quinto instar normais e parasitadas. O parasitismo natural foi muito baixo ou inexistente em todas regiões avaliadas. *T. radiata* se estabeleceu e promoveu altos níveis de controle de ninfas inicialmente. O parasitismo foi variável ao longo do ano em todas as regiões avaliadas, ocorrendo diferenças significativas entre os municípios e estações do ano. Os maiores valores foram obtidos nas épocas menos quentes do ano. Nas épocas mais quentes os maiores valores foram registrados no locais de clima mais ameno e nas épocas mais frias nos locais de clima mais quente. Não foi verificada a presença de hiperparasitoides. As populações de ninfa apresentaram comportamento semelhante em relação às estações do ano e municípios. Foi registrada uma população de ninfas relativamente constante ao longo do ano nos locais avaliados. *T. radiata* é um importante componente do manejo integrado de pragas do citrus, promovendo bons níveis de controle de ninfas de *D. citri* em locais onde não se faz aplicação de inseticidas e pode ainda migrar para pomares comerciais contribuindo também com a redução da população do psíldeo nestes locais.

Palavras-chave: Liberações inoculativas; HLB; Pomares domésticos

Abstract

Given the major problems caused by Huanglongbing (HLB) in citrus groves around the world, many control methods are being investigated. Currently, management of this pest is based on three fundamental points; planting healthy and certified seedlings; control of the vector, the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae); and eradication of diseased plants. In addition to chemical control, pest management can be conducted with the use of natural enemies, principally the parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterson, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), which has been used successfully on some islands where citrus groves are maintained. This study evaluated the establishment and efficiency of inoculative releases of *T. radiata* in groves with and without insecticide applications or chemical management, with respect to the reduction of the pest population. Groves with intense management and insecticide applications, and groves without insecticide applications were selected; and also areas with the presence of orange jasmine (*Murraya paniculata*), one of the main hosts of *D. citri*. In each area, 60 branches with buds were collected, brought to the laboratory, and evaluated under a stereoscopic microscope, to assess the level of *D. citri* infestation, as well as the presence or absence of the parasitoid. Then, 400 parasitoids/ha were released, and every 15 days a new evaluation as well as a new parasitoid release were conducted. The number of fourth- and fifth-instar nymphs, parasitized and not, was counted. The natural parasitism incidence was very low or nonexistent in all areas evaluated. *T. radiata* established and promoted high levels of nymph control, initially. The incidence of parasitism was variable during the year in all areas evaluated, with significant differences among municipalities and among seasons. The highest parasitism levels were obtained in the coldest seasons of the year. In the warmest seasons, higher levels were recorded in locations with milder weather; and in the coldest seasons, in locations with warmer weather. The presence of hyperparasitoids was not observed. The nymph populations showed a similar behavior relative to the season of the year and the different municipalities. The nymph population remained relatively constant throughout the year in all locations. *T. radiata* is an important component of integrated management of citrus pests, providing efficient control of *D. citri* nymphs in areas that are free from insecticide applications. The parasitoids may also migrate to commercial groves, contributing to the reduction of psyllid populations in these locations.

Keywords: Inoculative releases; HLB; Domestic citrus groves; Biological control

5.1 Introdução

Desde a detecção do huanglongbing (HLB) no Brasil, em 2004, a cadeia produtiva dos citros tem sofrido com o aumento dos custos de produção, decorrente, em grande parte, da aplicação de inseticidas e procedimentos de vistoria dos pomares para monitoramento da doença (FNP, 2009).

De acordo com Tiwari et al. (2010), pomares abandonados são importantes focos de disseminação do vetor *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), muitas vezes contaminado com a bactéria causadora da doença. Outra importante fonte do vetor são áreas, normalmente residenciais ou urbanas, com presença de murta [*Murraya paniculata* (L.) Jack], hospedeira do psíldeo, que também podem ser reservatório da doença (LOPES, et al., 2010). O manejo da doença e do vetor, nestes locais, é dificultado, principalmente pela restrição ao uso de inseticidas químicos. Nestes locais, a utilização do parasitoide de ninfas, *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), pode ser uma boa opção, uma vez que este inimigo natural tem se mostrado promissor em várias partes do mundo (HOY; NGUYEN; JEYAPRAKASH, 1999).

Este parasitoide foi liberado em programas de controle biológico clássico em Taiwan, na ilha Reunião (oceano Pacífico), ilhas Guadalupe (Caribe) e nos EUA (CHIEN; CHU, 1996; HOY; NGUYEN; JEYAPRAKASH, 1999; ÉTIENNE et al., 2001; SKELLEY; HOY, 2004). Nestes locais foram obtidos níveis de controle da praga considerados satisfatórios, principalmente naqueles onde ainda não havia a ocorrência da doença.

No Brasil, *T. radiata* foi registrado ocorrendo naturalmente em 2005 (GOMEZ-TORRES et al., 2006). Os valores iniciais de parasitismo verificados de até 80% foram, entretanto, diminuindo ao longo dos anos posteriores, fato atribuído à crescente aplicação de inseticidas (PARRA et al., 2010). Segundo Maschio (2011), cerca de 36% das propriedades do estado realizam mais de dez aplicações anuais de inseticidas, esta porcentagem sobe para quase 50% nas regiões noroeste e oeste do estado, sendo que em algumas áreas são feitas aplicações quinzenais.

T. radiata foi liberado, de forma experimental em pomares, no município de Araras, nas quais se obtiveram taxas de parasitismo de 52,1 a 72,6% (GOMEZ-TORRES, 2009). No México, o governo vem implantando um grande programa de

produção e liberação de *T. radiata*, utilizando 400 parasitoides por hectare (LOPEZ-ARROYO, comunicação pessoal).

Foi observado em São Paulo, no município de Mogi Mirim em 2011, que *T. radiata* liberado em pomar sem controle químico, foi capaz de se estabelecer e migrar para outra área próxima, onde se realizava aplicação de inseticidas, promovendo controle de ninfas da praga naquele local.

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de estabelecimento, e o parasitismo de *T. radiata* em pomares domésticos e áreas com presença de murta, onde não se faz a aplicação de inseticidas e com ocorrência de seu hospedeiro, *D. citri*, com vistas a fornecer subsídios para planejamento de sua utilização como componente de um programa de manejo integrado de pragas.

5.2 Materiais e métodos

Para o desenvolvimento dos trabalhos os insetos utilizados foram criados no laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Entomologia e Acarologia da Esalq/USP, segundo metodologia modificada de Gomez-Torres (2009).

5.2.1 Avaliação do estabelecimento e capacidade de parasitismo de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) em condições de campo

O trabalho teve por objetivo avaliar o parasitismo em diferentes condições de possível utilização do inimigo natural. Assim, foram selecionadas pomares de citros em produção e com tratamento fitossanitário bem estabelecido, pomares de citros abandonados sem nenhum tipo de tratamento e áreas residenciais e urbanas com presença de murta. As duas últimas condições situavam-se próximas dos pomares em produção, esperando-se a migração do parasitoide para regiões produtoras como observado anteriormente.

Na fase inicial do projeto, uma área foi selecionada no município de Mogi Mirim, sendo realizadas coletas de ramos para verificar o parasitismo natural, no setor de um pomar abandonado e em setores adjacentes em produção e com tratamento fitossanitário. Na primeira coleta, foi verificada a ocorrência de parasitismo apenas na parte abandonada; no entanto, após 4 liberações foi verificada a ocorrência do parasitoide também nos locais com tratamento.

Deste modo, o objetivo passou a ser a liberação em áreas com citrus sem aplicação de inseticidas ou urbanas, com vistas à obtenção do controle nestes locais, e posterior deslocamento do parasitoide para pomares em produção.

Portanto, as coletas foram realizadas em dois pontos por local, no pomar em produção e na área sem inseticida ou urbana, localizada nas proximidades. Foram escolhidos locais de coleta nos municípios de Anhembi, Cajobi, Casa Branca, Getulina, Itapetininga, Leme, Matão, Monte Azul Paulista, Mogi Mirim, Pirajuí, Rincão e Tatuí. Nos municípios de Cabrália Paulista e Pardinho foram realizadas coletas apenas com objetivo de se verificar a ocorrência de parasitismo natural, não sendo feitas liberações (Figura 1).

Figura 1 - Municípios escolhidos para realização de liberações de *T. radiata* para controle de *D. citri*, dentro das diferentes regiões citrícolas do estado de São Paulo

Em cada área foi realizado um levantamento de modo a avaliar o parasitismo natural. Para tanto, uma vez escolhido o local, foi realizada a coleta de 60 ramos novos (com brotações pequenas) ao acaso. Estes ramos foram acondicionados em sacos plásticos, etiquetados e trazidos ao laboratório em caixas de isopor para evitar grandes variações de temperatura. No laboratório, os ramos foram examinados sob microscópio estereoscópico para quantificação de ninfas de 4º e 5º instares (fases preferenciais de ataque pelo parasitoide) (GOMEZ-TORRES, 2009). A identificação das ninfas parasitadas foi realizada verificando-se a presença do orifício característico de saída do corpo do psíldeo que *T. radiata* promove ao emergir. Na ausência do orifício, as ninfas eram suspensas com estiletes para verificar a

existência de ovos ou larvas pequenas do parasitoide aderidas ao abdômen do psílídeo.

Foi determinada a porcentagem de ninfas parasitadas em relação ao total de ninfas presentes em cada conjunto de amostras. Em relação ao tamanho da área foram liberados o equivalente a 400 parasitoides por hectare, sendo este número usado baseando-se na nos trabalhos realizados no México.

O procedimento de coletas de ramos para amostragem e liberação de parasitoides foi repetido, quinzenalmente, em cada área.

Após cinco coletas/liberações em média, não foi verificada a presença de ninfas do psílídeo em nenhuma das coletas oriundas dos pomares em produção (com exceção do município de Mogi Mirim). Deste modo, tornou-se inviável a avaliação da migração do parasitoide para estes locais, e decidiu-se portanto, dar continuidade ao trabalho apenas nas pomares domésticos ou urbanas com presença de murta. Por questões de logística foram escolhidos apenas seis municípios para prosseguimento das coletas e liberações.

Os municípios escolhidos foram Anhembi (22° 47' 20" S – 48° 07' 37" O), Cajobi (20° 52' 48" S – 48° 48' 32" O), Getulina (21° 47' 56" S – 49° 55' 44" O), Itapetininga (23° 35' 30" S – 48° 03' 11" O), Pirajuí (21° 59' 56" S – 49° 27' 25" O) e Rincão (21° 35' 13" S – 48° 04' 15" O) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características das áreas utilizadas no trabalho de liberação de *T. radiata* para controle de *D. citri*

Cidade	Planta amostrada	Tamanho da área amostrada	Tipo de local	Região produtora do estado
Anhembi	Citrus	2,5 ha	Pomar doméstico	Sul
Cajobi	Murta	2,5 ha	Arborização urbana	Norte
Getulina	Citrus	2,5 ha	Pomar doméstico	Centro
Itapetininga	Citrus	2,5 ha	Pomar doméstico	Sul
Pirajuí	Murta	1 ha	Arborização urbana	Centro
Rincão	Murta	1,5 ha	Arborização urbana	Centro

O trabalho foi realizado ao longo do ano de 2012. A partir dos dados foi determinada a flutuação populacional da praga e de seu inimigo natural

correlacionando-os com parâmetros climáticos (temperatura média e precipitação pluviométrica referentes a quinzena anterior a coleta de dados). Os dados de parasitismo e de população de ninfas foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para verificação da normalidade; a partir destes resultados foram analisados por meio de correlação de Pearson para aqueles normais e com correlação de Spearman para os dados não normais.

Foi feito também um agrupamento das médias de acordo com a estação do ano e estes dados foram submetidos a análise de variância e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Ambas análises foram realizadas com programa estatístico SAS®.

Os dados de população de ninfas foram também avaliados por meio de índice de constância (SILVEIRA NETO et al., 1976) com vistas a verificar a flutuação populacional da praga ao longo do ano.

Os dados de precipitação pluviométrica e temperatura média de cada região foram fornecidos pelo Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas do Instituto Agrônomo de Campinas, por meio do Prof. Dr. Paulo Sentelhas do Departamento de Biosistemas da Esalq/USP.

5.3 Resultados e discussão

5.3.1 Parasitismo Natural

Não foi verificado parasitismo inicial ou natural nas localidades de Anhembi, Cajobi, Getulina, Leme, Matão e Monte Azul Paulista, sendo registrada uma taxa de 0,96% de parasitismo na área de Pirajuí e de 3,5% em Itapetininga. No município de Rincão o parasitismo inicial registrado foi de 22,2%, pois este local já havia sido utilizado previamente em testes preliminares de liberação de *T. radiata*.

Em estudo realizado nos municípios de Araras, Cordeirópolis e Limeira, Gomez-Torres (2009) concluiu que não havia a ocorrência de parasitismo natural por *T. radiata*, embora existissem ninfas do psílideo. Por meio do acompanhamento de quatro gerações de *D. citri* em campo, ao longo de sete meses, Paiva e Parra (2012) registraram um parasitismo natural médio de apenas 2,3%. Em levantamentos preliminares, realizados no segundo semestre de 2011, não foi verificado parasitismo nos municípios de Pardinho e Cabrália Paulista que apresentaram um média de 3,4 e 2,8 ninfas de *D. citri* / ramo respectivamente. Por

outro lado, em pomares nas cidades de Mogi Mirim e Tatuí o parasitismo foi de 6,1 e 5,6% com uma média de 19,1 e 4,9 ninfas/ramo.

Segundo Parra et al. (2010), o parasitismo natural decorrente da ação de *T. radiata* vem se reduzindo ao longo dos anos, desde o advento do HLB no Brasil em função da crescente aplicação de inseticidas para o controle do psíldeo vetor, pois de acordo com Neves (2011) o consumo de agroquímicos pelo setor citrícola aumento mais de 600% entre os anos de 2005 e 2010. Por meio de avaliação de alguns inseticidas utilizados no controle de *D. citri*, foi verificado que nenhum dos produtos testados foi seletivo a *T. radiata* (FERRARI et al., 2011).

5.3.2 Migração de *T. radiata*

Na área localizada no município de Mogi Mirim, o parasitismo inicial no pomar abandonado foi de 6,10 % e uma densidade de 19,02 ninfas/ramo, a maior registrada entre todas as coletas realizadas neste trabalho. Não foi verificada presença de ninfas, e conseqüentemente, do parasitoide no pomar em produção com aplicação de agroquímicos (Figura 2). Após quatro liberações de *T. radiata* no pomar abandonado, que fica distante em cerca de 400 metros do pomar com tratamento químico, o parasitismo elevou-se para 48,29% e a população de *D. citri* reduziu-se para 9,22 ninfas/ramo, valor ainda bastante alto entre as médias obtidas nas demais regiões estudadas. No entanto nesta quarta liberação, foi realizada uma nova coleta no pomar produtivo e verificou-se que havia presença do psíldeo (7,78 ninfas/ramo) e uma taxa de parasitismo de 59,76%. Em trabalho de liberação de *T.*

Figura 2 - Área experimental no município de Mogi Mirim, 1 indica setor com 3,35ha de plantio de laranja, abandonado, onde foram realizadas liberações de *T. radiata*, 2 indica setor de plantio de laranja, em produção e com tratamento fitossanitário, onde foram coletadas ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*. Setor 1 fica distante do setor 2 cerca de 400 metros

radiata, Gomez-Torres (2009) concluiu que houve a ocorrência de migração do

parasitoide, uma vez que foi verificado parasitismo em área distante 100 metros daquela onde foi liberado, sem que isso fosse verificado anteriormente. A capacidade de dispersão de *T. radiata* foi considerada excelente por Étienne e Aubert (1980) em função de liberação de pouco mais de 4000 indivíduos, que conseguiram se estabelecer e se dispersar por 400 km² da Ilha Reunião ao longo de 4 anos. Este fato foi também referido por Gavarra; Mercado e Gonzales (1990) nas Filipinas e por Istianto et al., (1992) na Indonésia.

Nas demais áreas onde se realizaram coletas em pomares produtivos, em nenhuma delas, após cerca de cinco amostragens, foi verificada a presença de ninfas, ou ainda, havia uma presença muito baixa (uma ninfa por coleta de sessenta ramos). Atribui-se este fato à crescente aplicação de inseticidas, para controle de *D. citri*, que tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. Algumas propriedades citrícolas tem realizado mais de 20 pulverizações anuais com objetivo de conter o avanço da doença.

5.3.3 Liberação e parasitismo em pomares domésticos ou áreas urbanas com presença de murta, e sem aplicação de agroquímicos.

O parasitismo e estabelecimento inicial de *T. radiata* foi elevado, havendo em média um aumento de 4,3 vezes do parasitismo inicial e uma redução da população de ninfas de 68,6% em média, para os seis municípios avaliados (Figura 3). O valores de aumento de parasitismo variaram de 2,1 vezes em relação ao inicial em Itapetininga a 8,7 vezes em Pirajuí, sendo que a redução de ninfas foi de 43,3% em Anhembi até 88,8% no município de Cajobi.

Foi obtido, dessa forma, um bom controle, de ninfas de *D. citri*, em todas as regiões avaliadas, sob diferentes níveis de infestação pelo HLB, confirmando, deste modo, que *T. radiata* pode ser um importante componente do manejo integrado do psilídeo, uma vez que altas reduções populacionais de *D. citri* foram obtidas em todas as áreas.

Figura 3 - Municípios nos quais foi realizada a liberação de *T. radiata* para o controle de *D. citri*, do estado de São Paulo, indicando as principais regiões produtoras de citros, a infestação média por HLB nestas regiões, com as médias de aumento de parasitismo inicial e redução da população de ninfas da praga, após oito liberações

Os valores de parasitismo registrados ao longo do período de avaliação foram variáveis (Figura 4). Apesar da ocorrência de médias menores do que as iniciais, houve épocas com altos valores de parasitismo em todas as áreas avaliadas, com exceção de Anhembi, onde o maior percentual obtido foi de 52,14%, entretanto para os demais locais os picos variaram entre 55,13 a 82,67% (Itapetininga), 46,15 a 87,64% (Getulina), 44,44 a 100% (Pirajuí), 44,68 a 87,01% (Rincão) 70,97 a 98,15% (Cajobi). Gomez-Torres (2009) também verificou, após liberação de *T. radiata*, um valor inicial de parasitismo alto, que se reduziu posteriormente. Em Taiwan, após cerca de 40 liberações do parasitoide, Chiu e Chien (1989) verificaram também valores variáveis de parasitismo de 30 até 87%, semelhantes aos valores observados nas presentes liberações.

Os altos valores de parasitismo observados não se referem a parasitismo de uma ou poucas ninfas, mas de uma população maior, indicando, desse modo, uma consistência dos resultados obtidos. Se estes altos níveis de parasitismo coincidirem com a ocorrência dos fluxos de brotação, eles se tornam um fator importante na redução populacional de ninfas da praga.

Figura 4 - Variação do parasitismo de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* em seis municípios, indicando os maiores valores observados em cada localidade

Por meio dos testes de Spearman (para dados com distribuição não normal) e Pearson (para dados com distribuição normal), não foi verificada correlação significativa entre o parasitismo e a população de ninfas (Tabela 2) em todos os municípios. A interação de parasitismo e temperatura foi significativa apenas no município de Pirajuí, ocorrendo uma correlação positiva, ou seja, o aumento do parasitismo está relacionado com um aumento da temperatura. A interação de parasitismo e precipitação pluviométrica (chuva) foi significativa apenas no município de Cajobi, sendo negativamente correlacionada; a chuva foi também negativamente

relacionada com a população de ninfas no município de Rincão; no entanto, quando avaliada a interação de temperatura e população de ninfas foi altamente significativa e positiva apenas no município de Itapetininga.

Tabela 2 - Coeficientes de correlação de Spearman calculados para interação entre os valores de parasitismo por *T. radiata* e população de ninfas de *D. citri* e os fatores climáticos (temperatura média e precipitação pluviométrica) para seis municípios do estado de São Paulo

Interação / Cidade	Anhembi	Cajobi	Getulina*	Itapetininga	Pirajuí	Rincão
Parasitismo x ninfas	0,024 ^{ns}	0,135 ^{ns}	0,321 ^{ns}	0,005 ^{ns}	-0,170 ^{ns}	0,164 ^{ns}
Parasitismo x temperatura	-0,388 ^{ns}	-0,341 ^{ns}	-0,091 ^{ns}	-0,052 ^{ns}	0,507 ^{**}	0,095 ^{ns}
Parasitismo x chuva	-0,286 ^{ns}	-0,396 ^{**}	-0,063 ^{ns}	0,082 ^{ns}	-0,154 ^{ns}	-0,346 ^{ns}
Ninfas x chuva	-0,107 ^{ns}	-0,392 ^{ns}	-0,027 ^{ns}	0,206 ^{ns}	0,232 ^{ns}	-0,388 ^{**}
Ninfas x temperatura	0,387 ^{ns}	-0,252 ^{ns}	0,104 ^{ns}	0,797 ^{**}	0,203 ^{ns}	-0,379 ^{ns}

*Para o município de Getulina foi realizada a correlação de Pearson, uma vez que os seus dados apresentaram normalidade. ** significativo ($p < 0,05$). ns = não significativo.

Por meio de avaliação de plantas de murta em áreas residenciais, Chong; Roda e Manion (2010) também verificaram que a população de ninfas de *D. citri* não foi correlacionada com os fatores climáticos (velocidade do vento, precipitação pluviométrica, umidade relativa e temperatura média) e também não apresentou padrões consistentes entre os locais avaliados, sendo correlacionada apenas com a presença de brotações.

Nenhuma correlação entre a população de *D. citri* e precipitação pluviométrica também foi observada por Michaud (2004), segundo Tsai; Wang e Liu, (2002), sendo que, possíveis correlações entre as populações do psíldeo e fatores ambientais podem, na verdade, serem efeitos indiretos do clima sobre o fluxo de brotações das plantas hospedeiras.

Embora, praticamente, não tenha sido observada correlação dos parâmetros comparados com o parasitismo, quando os dados foram agrupados de acordo com a estação do ano, foram observadas interações dos fatores e diferenças significativas (Tabela 3).

Tabela 3 - Parasitismo médio de *T. radiata* sobre *D. citri* nas diferentes estações do ano em seis municípios do estado de São Paulo

	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Anhembi	9,51 ± 7,22 Ba	16,32 ± 6,95 Ba	9,43 ± 1,61 Ba	4,06 ± 1,61 Ba
Cajobi	15,45 ± 5,70 ABb	44,12 ± 11,94 Aa	53,91 ± 11,94 Aa	26,90 ± 12,34 Aab
Getulina	28,94 ± 15,74 Aab	24,46 ± 11,04 ABb	54,33 ± 8,78 Aa	25,58 ± 10,75 Ab
Itapetininga	36,53 ± 11,02 Aa	68,08 ± 5,96 Aa	21,68 ± 8,49 ABb	29,90 ± 9,11 Aab
Pirajuí	14,69 ± 9,50 Bb	20,43 ± 11,06 ABa	14,35 ± 8,00 Bb	38,85 ± 13,22 Aa
Rincão	20,90 ± 5,50 ABa	36,59 ± 6,74 Aa	37,59 ± 11,06 Aa	33,41 ± 7,18 Aa
Média	21,08	35,00	31,88	26,45

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os valores médios de parasitismo registrados entre as estações, para todos os locais avaliados, s foram, de modo geral, baixos, variando de 21,08% no verão a 35,00% no outono. Entretanto os maiores valores foram obtidos nas estações mais frias do ano, sendo que, estes resultados diferem daqueles obtidos por Paiva e Parra (2012) que observaram os maiores valores no verão. Por outro lado, as mais elevadas taxas de parasitismo, foram também observadas nos meses de temperaturas mais amenas nos EUA (QURESHI et al., 2009) e China (YANG et al., 2006).

Os valores de parasitismo observados para Anhembi, foram inferiores a todas as demais localidades em todas as estações, mesmo se comparados com Itapetininga que possui características climáticas bem semelhantes. Estes resultados podem ser devidos a fatores não observados nos levantamentos realizados, como a aplicação de inseticidas, que podem ter derivado de aplicações em pomares comerciais nas imediações, uma vez que, a áreas experimental é próxima de unidades de produção citrícola que recebem aplicações maciças de produtos químicos.

Avaliando-se as estações mais quentes do ano (verão e primavera), para primavera não se verificaram diferenças entre os municípios, com exceção de Anhembi, que apresentou a menor média. Durante o verão, a maior média obtida foi para o município de Itapetininga (36,53%) e a menor em Anhembi (9,51%), seguindo-se Pirajuí (14,69%).

Itapetininga possui clima do tipo Cwa (clima subtropical úmido, segundo a Classificação climática de Köppen-Geiger) com médias de temperatura para o verão de 23,22°C, ou seja, condições mais amenas e com maior umidade, Pirajuí, por outro lado, possui clima tipo Aw (clima tropical semi úmido) com média de 27,56°C no verão. Segundo Gomez-Torres et al. (2012) os maiores valores de parasitismo de *T. radiata* são obtidos a 25°C e a emergência a 70% de umidade relativa. Deste

modo, a condição mais quente e a maior possibilidade de períodos de estiagem em Pirajuí podem ter prejudicado a ação dos insetos liberados.

De acordo com McFarland e Hoy (2001) a exposição de *T. radiata* a condições de alta temperatura e umidade relativa reduzida, mesmo que por pequenos períodos provoca uma grande mortalidade no parasitoide, reduzindo sua expectativa de vida.

Do mesmo modo, nas estações mais frias, os maiores valores de parasitismo foram obtidos nas regiões de clima mais quente, pois nestas localidades, no inverno a média de temperatura se aproximou mais daquela ideal (25°C) obtida por Gomez-Torres et al. (2012), 22,81°C em média no outono e 22,05°C no inverno para Cajobi (44,12 e 53, 91% de parasitismo respectivamente), embora os maiores valores obtidos para outono e inverno tenham sido de 68,08 e 54,33% para Itapetininga, e Getulina, que possuem temperaturas médias de 18,86 e 20,91°C para as duas estações, respectivamente.

Por meio de levantamento realizado no estados da Bahia, São Paulo e Sergipe, nos anos de 1983 e 1984, Aubert (1987) verificou a ampla presença de *D. citri* no pomares amostrados. No entanto, concluiu que não havia a presença de *T. radiata*, uma vez que não foi encontrado nenhum parasitoide.

Por outro lado, amostras do psílideo expostas ao parasitismo de populações de *T. radiata* mantidas por aquele autor em laboratório se mostraram altamente susceptíveis obtendo uma média de 96% de parasitismo. Deste modo, as taxas variáveis de parasitismo obtidas, podem ser devidas à outros fatores não observados neste estudo, uma vez que também foram observadas em outro trabalho que envolveu um número muito maior de liberações (41) em Taiwan (CHIU; CHIEN, 1989).

A amostragem de populações de *T. radiata* de diferentes regiões do estado de São Paulo indicaram que as mesmas possuem uma baixa variabilidade genética, o que pode ser um indício de uma introdução recente (FELIPE DOMINGUES, comunicação pessoal). Paiva e Parra (2012) especularam que a introdução do parasitoide tenha ocorrido na década de 90. A diversidade genética é fundamental para uma população manter sua aptidão reprodutiva, reagir a mudanças ambientais, garantindo assim sua sobrevivência a longo prazo (BROOK et al., 2002). Comparando populações de campo e laboratório nos EUA, foi verificada também uma estreita base genética (BARR et al., 2009). Os parasitoides liberados são

provenientes da criação da Esalq/USP, fundada com exemplares coletados em propriedades próximas ao campus e talvez apresentem também esta baixa variabilidade.

Segundo Chien; Chiu e Khu (1988), liberações de *T. radiata* podem ser prejudicadas pela ação de hiperparasitoides das famílias Pteromalidae e Aphelinidae. Entretanto, em nenhuma das coletas realizadas foi verificada a presença, ou mesmo, indícios de que existam hiperparasitoides associados à *T. radiata* nas localidades amostradas. Em levantamento, de *D. citri*, em plantas de murta ao longo de um ano, Chong; Roda e Manion (2010) também não verificaram a presença de hiperparasitoides.

Ao longo do período de desenvolvimento deste trabalho, foram liberados nas seis regiões estudadas pouco mais de 110.000 parasitoides, sendo esta quantidade bem superior àquela liberada por Étienne e Aubert (1980) na ilha Reunião (4600 indivíduos), ou ainda por Étienne et al. (2001) nas ilhas Guadalupe (1000 indivíduos) e Chien e Chu (1996) (20.000 indivíduos) em Taiwan. O presente trabalho assemelha-se apenas ao programa desenvolvido pelo governo mexicano que vem liberando a mesma taxa de 400 parasitoides/ha em diversas regiões daquele país (López-Arroyo, comunicação pessoal).

Com relação à população de ninfas de *D. citri* agrupadas por estação do ano houve significativas entre as estações e as cidades estudadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Número médio de ninfas de *D. citri*/ramo nas diferentes estações do ano em seis municípios do estado de São Paulo

	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Anhembi	1,53 ± 0,51 Bb	1,10 ± 0,34 Ab	1,19 ± 0,33 ABb	3,34 ± 0,91 Aa
Cajobi	1,51 ± 0,83 Bab	0,68 ± 0,17 Ab	2,25 ± 0,58 Aa	0,87 ± 0,26 Bb
Getulina	2,77 ± 0,85 Aa	1,19 ± 0,44 Aab	2,15 ± 0,15 Aa	1,05 ± 0,17 Bb
Itapetininga	4,10 ± 0,82 Aa	1,83 ± 0,49 Ab	1,20 ± 0,38 ABb	3,15 ± 0,61 Aa
Pirajuí	1,94 ± 0,48 ABa	0,70 ± 0,53 Ab	0,38 ± 0,13 Bb	0,43 ± 0,18 Bb
Rincão	1,24 ± 0,32 Ba	1,93 ± 0,10 Aa	1,84 ± 0,33 Aa	1,44 ± 0,36 ABa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem ($p < 0,05$).

Não houve diferença entre os municípios avaliados durante o outono. Por outro lado, tanto para o verão, quanto para inverno, os maiores valores de médias de ninfas foram atribuídos às localidades que apresentaram, os maiores valores de parasitismo (Tabela 3), ou seja, Itapetininga e Getulina (4,10 e 2,77 ninfas/ramo) no verão e Cajobi, Getulina, e Rincão no inverno (2,25, 2,15 e 1,84 ninfas/ramo respectivamente).

Foi verificada uma população de ninfas de *D. citri* ao longo de todo período de amostragem, variando de 1,84 ninfas/ramo em média no verão até 1,24 no outono, para todas as regiões amostradas. Entre os municípios estudados, os valores variaram de 0,38 ninfas/ramo em Pirajuí no inverno até 4,10 (Itapetininga durante o verão). As médias de ninfas / ramo, aqui observadas, são semelhantes àsquelas obtidas por Paiva (2009), ou seja, de 2,40 ninfas. A maior média ao longo de o todo trabalho foi registrada no município de Mogi Mirim, (19,10 ninfas / ramo). No entanto, é ainda menor que metade da média verificada em pomares norte americanos por Hall et al. (2008) de 59,06 ninfas / ramo. Segundo Parra et al. (2010) é possível que existam duas linhagens de *D. citri*, uma americana e outra brasileira, uma vez que a despeito da menor densidade populacional do psíldeo em condições nacionais, ainda se verifica uma alta taxa de infecção pelo HLB, que vem se mantendo crescente (FUNDECITRUS, 2012).

Estes locais, que não possuem uma rotina de controle de *D. citri*, podem estar servindo de fonte de dispersão do vetor, uma vez que as maiores populações foram registradas nos meses mais quentes. Tiwari et al. (2010) verificaram que um grande número de adultos do psíldeo migram de pomares abandonados para áreas produtivas, também nos meses mais quentes do ano, muitos destes confirmadamente infectados pela *Ca. Liberibacter asiaticus*, espécie de bactéria predominante no Brasil.

Embora neste trabalho, não tenham sido realizados testes para presença da bactéria, é provável que muitas das populações estudadas estivessem infectadas, dada a disseminação da doença no estado. A população média coletada em plantas de murta foi de 1,55 ninfas/ramo, com pico de 2,37 no verão. Segundo Lopes et al. (2010) cerca de 13% das plantas de murta amostradas no estado estavam contaminadas com pelo menos um tipo de bactéria.

Segundo Inoue et al. (2009) o controle de *D. citri* na fase de ninfa é fundamental, uma vez que a taxa de infectividade do psíldeo é muito maior quando ele é infectado nesta fase do que na fase adulta

Com relação à presença de ninfas de *D. citri* nas coletas, é possível verificar que as ninfas de psíldeo apresentaram um alta constância em quase todos os municípios e estações do ano (Tabela 5). Segundo Silveira Neto et al. (1976) o índice de constância serve para indicar a presença de uma espécie ao longo de uma série de coletas, sendo considerada espécie constante quando o índice é maior ou

igual a 50, ou seja, a espécie está presente em mais de 50% das coletas; é considerada espécie acessória quando o índice estiver entre 50 e 25 e espécie acidental com índice menor que 25.

Tabela 5 - Índice faunístico de constância para ninfas de *D. citri* em seis municípios de São Paulo nas diferentes estações do ano

	Verão	Outono	Inverno	Primavera
Anhembi	83,24	51,31	57,04	65,87
Cajobi	58,15	28,21	62,01	43,86
Getulina	65,67	57,62	76,47	39,32
Itapetininga	80,73	80,06	54,69	79,09
Pirajuí	64,40	15,78	73,60	61,62
Rincão	77,08	88,00	69,10	66,51

Espécie constante ≥ 50 , espécie acessória $>25 < 50$, espécie acidental < 25 .

A alta presença das ninfas verificada em praticamente todas as regiões e estações do ano, não parece estar relacionada com a taxa de plantas infectadas. De acordo o último levantamento realizado pelo Fundecitrus em setembro de 2012, a região central do estado apresenta a maior taxa média de plantas infectadas com HLB (9,89%). Para as cidades desta região a média da constância e população de ninfas foi de 62,90 e 1,42 ninfas/ramo respectivamente. Para região norte, onde a taxa de infecção é de 1,78%, os mesmos parâmetros foram 48,10 e 1,33 ninfas/ramo. Por outro lado, na região sul que apresenta a segunda menor taxa de infecção por HLB (0,85%), ocorreram os maiores valores de constância (69,00%) e população média (2,18 ninfas/ramo).

Tal fato talvez esteja relacionado com a adaptação climática das bactérias, uma que vez, *Ca. Liberibacter asiaticus*, a mais frequente no estado de São Paulo (LOPES et al., 2009), tem seu desenvolvimento favorecido por condições de maior temperatura ao longo do ano (GASPAROTTO et al., 2012).

As características dos locais avaliados, neste trabalho, (pomares domésticos ou arborização urbana), muitas vezes fazem com que estes recebam cuidados como podas ou irrigação com certa frequência, e tais atividades contribuem para o surgimento de brotações ao longo do ano, mesmo em condições mais frias ou secas. Tal fato pode levar à presença de ninfas de *D. citri* durante todo ano, como verificado para os seis locais avaliados (Tabela 5).

De acordo com Hall et al. (2008), uma forma eficiente de controle do psílídeo seria concentrar esforços no período de maior brotação das plantas hospedeiras, assim, é importante traçar uma estratégia de controle diferenciada para locais, como os avaliados neste estudo, em função de apresentarem um período de brotação mais constante ao longo do ano.

Pelos resultados da presente pesquisa, pode-se sugerir a utilização de *T. radiata* em pomares orgânicos, domésticos ou abandonados, ou ainda, áreas com presença de murta, esperando-se o estabelecimento do parasitoide nestes locais e sua migração para pomares comerciais, desde que sejam utilizados nestes, produtos seletivos; contribuindo assim como efetivo componente do manejo integrado de *D. citri*.

5.4 Conclusões

- *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) se estabeleceu em todas as regiões avaliadas e promoveu uma boa taxa de redução de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae);
- O parasitismo natural foi baixo, ou inexistente em todas as regiões avaliadas;
- O parasitismo registrado foi inicialmente alto, após liberações, tornando-se variável ao longo do ano nas seis localidades estudadas, com as médias de cada região oscilando de 5,9 a 40,0%;
- Picos populacionais com altos valores de parasitismo foram registrados em todos municípios com exceção de Anhembi;
- O parasitismo foi significativamente diferente entre as estações do ano e entre os municípios estudados, sendo as maiores médias registradas nas estações do ano com temperaturas mais amenas;
- Entre os municípios não houve diferença do parasitismo durante a primavera. De modo geral no verão as maiores médias foram obtidas nos locais de clima mais ameno e durante inverno e outono naqueles de clima mais quente;

- A população de ninfas de *D. citri* apresentou comportamento muito semelhante ao parasitismo em relação às estações do ano e municípios avaliados;
- A população de ninfas apresentou alta constância na maioria das localidades avaliadas ao longo do ano.

Referências

- AUBERT, B. *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, n. 42, p. 149-162, 1987.
- BARR, N.B.; HALL, D.G.; WEATHERSBEE, A.A.; NGUYEN, R.; STANSLY, P.; QURESHI, J.A.; FLORES, D. Comparison of laboratory colonies and field populations of *Tamarixia radiata*, an ectoparasitoid of the Asian citrus psyllid using internal transcribed spacer and cytochrome oxidase subunit I DNA sequences. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, p. 2325–2332, 2009.
- BROOK, B.W.; TONKYN, D.W.; O'GRADY, J.J.; FRANKHAM, R. Contribution of inbreeding to extinction risk in threatened species. **Ecology and Society**, Santa Ana, v. 6, p. 1-16, 2002.
- CHIEN, C.C.; CHIU, S.C.; KU, S.C. Biological control of citrus psylla *Diaphorina citri*, the introduction, augmentation and release of *Tamarixia radiata*. **Journal of Agricultural Research of China**, Taichung, v. 37, n. 4, p. 430-439, 1988.
- CHIEN, C.C.; CHIU, S.C.; KU, S.C. Mass rearing and field release of an eulophid wasp, *Tamarixia radiata* (waters.). Biological Control Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. **Food and Fertilizer Technology Center**, Taipei, n. 2001-5, 4p. 2001.
- CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Control Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. **Food and Fertilizer Technology Center**, Taipei, n. 47, 21p. 1996.
- CHIU, S.C.; CHIEN, C.C. Control of *Diaphorina citri* in Taiwan with imported *Tetrastichus radiatus*. **Frutis**, Paris, v. 44, p. 29-31, 1989.
- CHONG, J.H.; RODA, A.L.; MANNION, C.M. Density and Natural Enemies of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), in the Residential Landscape of Southern Florida. **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, Mt. Pleasant, v. 27, n. 1, p. 33-49, 2010.
- ETIENNE, J.; AUBERT, B. Biological control of psyllid vectors of greening disease on Reunion Island. In: 8TH CONFERENCE OF THE IOCV, 1980. **Proceedings...** Riverside: University of California, 1980, p. 118-121.

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

FERRARI, B.M.; OMOTO, C.; ROCHELLE, A.T.F.A.; SUMIYA, B.K.I. Efeito letal e subletal de inseticidas sobre *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, (no prelo). 2011.

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

FUNDECITRUS. 2012. Disponível em: <http://www.fundecitrus.com.br/Noticias/05.11.12---Greening-atinge-6,9--das-arvores-dos-pomares-paulistas,315>. Acesso em 12 dez. de 2012.

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

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

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

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

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

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

HOY, M.; NGUYEN, R.; JEYAPRAKASH, A. Classical biological control of the Asian citrus psylla release of *Tamarixia radiata*. **Citrus Industry**, Kenansville, v. 80, n. 9, p. 20-22, 1999.

INOUE, H.; IHONISHI, J.; ITO, T.; TOMIMURA, K.; MYATA, S.; IWANAMI, T.; ASHIHARA, W. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus Liberibacter asiaticus* by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. **Annals of Applied Biology**, Chichester, v. 155, p. 29-36, 2009

ISTIANTO, M.; ENDARTO, O.; SETYOBUDI, L.; ANDAYANI, S. Evaluasi potensi parasitoid individu *Tamarixia radiata* terhadap nimfa *Diaphorina citri* Kuw. **Jurnal Hortikultura**, Malang, v. 2, n. 4, p. 35-37, 1992.

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

LOPES, S.A.; FRARE, G.F.; CAMARGO, L.E.A.; WULFF, N.A.; TEIXEIRA, D.C.; BASSANEZI, R.B.; BEATTIE, G.A.C.; AYRES, A.J. Liberibacters associated with orange jasmine in Brazil: incidence in urban areas and relatedness to citrus liberibacters. **Plant Pathology**, Chichester, v. 59, n. 6, p. 1044-1053, 2010.

MASCHIO, F. **Ações Adotadas pelo Citricultor para o Manejo do Huanglongbing (HLB, Greening) no Parque Citrícola Paulista**. 2011. 30p. Dissertação (Mestrado Profissional em Controle de Doenças e Pragas dos Citros) – Fundo de Defesa da Citricultura, 2011.

McFARLAND, C.D.; HOY, M.A. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and Its Two Parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under Different Relative Humidities and Temperature Regimes. **Florida Entomologist**, Lutz, v. 84, n. 2, p. 227-233, 2001.

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

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

PAIVA, P.E.B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais, e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**. 2009. 65p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

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

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

QURESHI, J.A.; ROGERS, M.E.; HALL, D.G.; STANSLY, P.A. Incidence of Invasive *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and Its Introduced Parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Florida Citrus. **Journal Of Economic Entomology**, Lanham, v. 102, n. 1, p. 247-256, 2009.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1976. 419p.

SKELLEY, L.H.; HOY, M.A. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. **Biological Control**, Maryland Heights, v. 29, p.14-23, 2004.

TIWARI, S.; LEWIS-ROSENBLUM, H.; PELZ-STELINSKI, K.; STELINSKI, L.L. Incidence of *Candidatus Liberibacter asiaticus* Infection in Abandoned Citrus Occurring in Proximity to Commercially Managed Groves. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 103, n. 6, p. 1972-1978, 2010.

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

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