

**Presentación de
resultados**

Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citricultura

inia

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
URUGUAY



“Presentación de resultados de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Citricultura”

- Diagnóstico, caracterización molecular y regionalización de virus y viroides de gran impacto para el sector citrícola nacional: resultados del proyecto fpta 310. 1
- Presencia del genotipo RB-CTV en Uruguay: Implicancias y perspectivas 3
- Programa nacional de saneamiento y certificación de cítricos (PNSCC) y “plataforma” de diagnóstico de virus y viroides. 5
- HLB en Argentina: nueva enfermedad en cítricos 7
- Impacto del manejo de Huanglongbing en plantaciones cítricas de Cuba 9
- Fluctuación de poblaciones y distribución espacial de *D. citri* en los cuadros de cítricos 11
- *Tamarixia radiata*, ajustes de la cría y primera liberaciones 15
- Control químico y tecnologías de monitoreo de *Diaphorina citri* 19
- Identificación de especies de parasitoides y depredadores de *D. citri* (hemiptera: liviidae). 22
- Evaluación de Hongos entomopatógenos para el control de *Diaphorina citri*. 25
- Estudio y desarrollo de tecnologías de manejo del taladro de los cítricos *Diploschema rotundicolle* 27

- Estudios realizados para el ajuste de modelos de predicción de la mancha marrón de las mandarinas en condiciones de clima templado 29
- Red Tecnológica Sectorial para la Innovación en Postcosecha de Cítricos 31
- El daño por frío en los cítricos durante el almacenamiento y transporte: Estrategias de mitigación 32
- Propiconazole. Estudios para el control de la podredumbre amarga en cítricos..... 33
- Estudios en Poscosecha de Cítricos en INTA Concordia 34
- Manejo de 'Nadorcott' para producir frutos con menos semillas. Trabajos pasados, presente y futuro..... 37
- Polinizadores de Cítricos..... 38
- Sistemas de alta producción en 'Nadorcott'. Trabajos presentes y futuros. 39
- Herramientas para mejorar el riego y fertirriego. 40
- Mejoramiento Genético de Cítricos: nuevas variedades y tecnologías aplicadas. 42

Diagnóstico, caracterización molecular y regionalización de virus y viroides de gran impacto para el sector citrícola nacional: resultados del proyecto fpta 310.

María José Benítez-Galeano¹, Estefani Bertoni¹, Federico Dalmao², Ana Bertalmío³, Leticia Rubio³, Diego Maeso³, Fernando Rivas³ y Rodney Colina¹✉.

1. Laboratorio de Virología Molecular, CENUR Litoral Norte, Salto, Universidad de la República.

2. Departamento de Matemática y Estadística del Litoral, CENUR Litoral Norte, Salto, Universidad de la República.

3. Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

✉ Correspondencia para: rodneycolina1@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los cítricos son el cultivo frutal más importante a nivel económico en el mundo. En el Uruguay la citricultura es un rubro con fuerte impacto socio-económico y constituye un sector exportador en expansión, el de mayor importancia dentro del área hortifrutícola. El litoral norte del país es la región de mayor producción con un 83% de la superficie total cultivada, concentrando el 90% de la producción de naranja, mandarina y pomelo. Por otro lado, la zona sur presenta el 17% de su superficie total cultivada y genera el 70% de la producción de limón. Desde el punto de vista comercial, la naranja constituye el 51.3% de la producción citrícola nacional y representa el 55% de las exportaciones, seguido de mandarina y limón, con un 32% y 13% de las exportaciones, respectivamente. Se percibe un ingreso aproximado de 85 millones de dólares anuales por concepto de dichas exportaciones. Sin embargo, las distintas especies de cítricos son susceptibles a numerosas enfermedades causadas por diversos microorganismos, entre los que están los virus y viroides, cuya consecuencia directa es la disminución en la producción, lo que provoca enormes pérdidas económicas en todas las zonas afectadas del mundo. Las enfermedades de mayor importancia son aquellas cuya vía de transmisión es el injerto, siendo los agentes responsables parásitos intracelulares tales como virus y viroides, que se propagan junto con el material vegetal. Existen diversas enfermedades provocadas por este tipo de patógenos que afectan a los cítricos, causando grandes pérdidas económicas que se estiman en el orden del 30% de la producción citrícola nacional. Hasta el presente trabajo, el estado del arte de la citricultura en el país era desconocido. Es por ello que nos planteamos realizar un exhaustivo estudio mediante la optimización y posterior uso de métodos moleculares de alta sensibilidad a fin de establecer, en las distintas zonas citrícolas del país y en sus variedades más representativas, la prevalencia de los siguientes patógenos: Virus de la Tristeza de los Cítricos (CTV), Virus de la Psorosis de los Cítricos (CPsV), Virus Satsuma Dwarf (SDV), Citrus Exocortis Viroid (CEVd), Caquexia o Hop Stunt Viroid (HSVd), Citrus Bent Leaf Viroid (CBLVd), Citrus Viroid-IV (CVd-IV) y Citrus Viroid-III (CVd-III).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectó un total de 1175 muestras (tallos y hojas) con la siguiente distribución geográfica: 1000 muestras de la región norte que comprenden los departamentos de Artigas, Salto, Paysandú y Río Negro y 175 muestras de la región sur, que comprende los departamentos de San José, Montevideo y Canelones. Las

variedades colectadas fueron Navel (258) y Valencia (348) dentro de las Naranjas, haciendo un total de 606 muestras; Afourer (234) y Clementinas (183) dentro de las Mandarinas, con un total de 417 muestras; y 152 limones sin preferencia por alguna variedad. También se tuvo en cuenta al momento de la colecta, la edad de las plantas. Se establecieron 4 franjas etarias: de 0 a 5 años, de 6 a 14 años, de 15 a 20 años y más de 20 años.

El tejido fue macerado en nitrógeno líquido y la extracción del RNA total se realizó con el RNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) siguiendo las especificaciones del fabricante. Posteriormente se retrotranscribió el RNA con la enzima RevertAid Reverse Transcriptase (Thermo) con hexámeros randómicos y posteriormente se procedió a la detección molecular para cada patógeno. Se lograron optimizar todos los métodos moleculares de manera exitosa para los mencionados patógenos, todos ellos basados en la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) tanto en tiempo final como en tiempo real. Todos los viroides fueron analizados por PCR en tiempo final al igual que el virus SDV. Para la detección de CPsV se utilizó una PCR en tiempo real con SYBR® con una T_m de $80^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Por último, para la detección de CTV se estandarizó una PCR en tiempo real con tecnología TaqMan dirigida a la región 5'UTR del virus y para su posterior caracterización se amplificó la región correspondiente al gen p25 mediante PCR en tiempo final. Los productos de PCR fueron secuenciadas bidireccionalmente en Macrogen (Corea del Sur) para su posterior análisis filogenético.

RESULTADOS

Los resultados muestran que para los viroides CBLVd y CVd-IV no hubo detección en ninguna de las plantas analizadas, y para el viroide CEVd hubo detección en una única muestra. Es importante mencionar que el CVd-IV no ha sido previamente reportado en Uruguay y tampoco fue detectado en el presente estudio. Por otro lado, se detectaron 183 y 42 muestras positivas para los viroides CVd-III y HSVd, representando un 15,6% y 3,6% respectivamente del total de muestras colectadas. En cuanto a los virus, el que mostró mayor detección fue CTV, con un 93,3% de muestras positivas, lo que representa un total de 1096 muestras positivas del total analizado. Para CPsV se detectaron 529 muestras positivas lo que representa un 45% del total de las muestras colectadas. Por último, para SDV no se detectó ninguna muestra positiva. Cabe destacar que al momento la presencia de este virus en Uruguay no ha sido reportada.

En cuanto a la caracterización molecular de CTV basada en el gen p25 se secuenciaron 451 muestras y se detectó la presencia de 5 de los 7 genotipos descritos hasta el momento. Estos fueron VT, T68, T3, RB y NC, con una elevada prevalencia de este último genotipo (87%).

CONCLUSIÓN

Estos estudios representan un gran avance debido a que se generaron nuevas herramientas diagnósticas que permitieron aportar nuevos conocimientos respecto a la prevalencia y distribución por variedad/edad y región geográfica de importantes patógenos en la citricultura nacional. Estos resultados son la base de futuras acciones a tomar en el sentido de ir hacia una mejora en la producción citrícola del país.

Presencia del genotipo RB-CTV en Uruguay: Implicancias y perspectivas

L.Rubio¹, A. Bertalmío¹, L.Hernández¹, A. Arruabarrena¹, A. Otero¹, F.Rivas¹, M.J. Benítez², R. Colina², D. Maeso¹.

1. Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

2. Laboratorio de Virología, CENUR-UdelaR.

Email de correspondencia: dmaeso@inia.org.uy

La “tristeza”, causada por *Citrus Tristeza Virus* (CTV), es una enfermedad que ha afectado a los cítricos desde 1930, provocando la muerte de millones de plantas en plena producción injertadas sobre naranjo agrio y obligó a la sustitución de dicho portainjertos por trifoliados resistentes al virus. En nuestro país, la enfermedad y el vector son endémicos, sin embargo no es considerada una enfermedad limitante ya que más del 90% de la citricultura utiliza portainjertos resistentes al declinamiento (*Poncirus trifoliata* o sus híbridos) y por lo tanto no es fácil observar síntomas atribuibles a CTV a nivel de campo.

Actualmente, en Uruguay, las plantas cítricas que se comercializan son producidas a través del Programa Nacional de Saneamiento y Certificación de Citrus y se encuentran libres de tristeza. Sin embargo, esta enfermedad se transmite eficientemente por pulgones en condiciones de campo y se espera que las plantas saneadas sean infectadas en pocos años. Con el fin de mitigar el efecto del virus en las nuevas plantaciones, en los últimos años se han desarrollado líneas de investigación tendientes a encontrar una estrategia de manejo para CTV (Proyecto INIA-CT-06, FPTA 310).

Estos estudios han confirmado que más del 90% de las plantas muestreadas tienen tristeza, con predominio de variantes severas, capaces de producir acanaladuras en la madera, fuertes clorosis, enanismo y nervaduras corchosas. Pero además, se constató una alta variabilidad genética, ya que para este virus se han definido 7 grupos genéticos: T36, T3, VT, RB, T68, T30 y HA165 (Dawson et al. 2015) y en el país circulan seis de éstos, siendo el resultado más relevante la presencia del genotipo RB (resistance-breaking).

La variante RB del virus tiene la particularidad de ser la única capaz de multiplicarse en *P. trifoliata*; fue detectada hace unos años en Nueva Zelanda (Dawson y Mooney, 2000) y recientemente en Puerto Rico, República Dominicana, Sudáfrica y California (Roy et al., 2013; Matos et al., 2013; Scott et al., 2013; Yokomi et al., 2017).

Hasta el momento, los resultados indican que la línea RB circula en baja frecuencia en el país, aunque tiene asociación significativa con portainjertos trifoliados y nuestros muestreos han estado dirigidos a la copa del árbol. Fue obtenido de muestras colectadas en el 2014 y 2015, en infecciones mixtas con otros genotipos, de los que ha sido aislado mediante el uso de áfidos, aunque también fue registrado en muestras de la colección de aislados de CTV de INIA que permanecen confinados en invernáculos desde hace 15 años. Si bien no hay reporte de muerte de plantas, sus efectos sobre *P. trifoliata* aún no están claros y en el caso de que RB-CTV afecte negativamente parámetros fisiológicos representa una amenaza para nuestra citricultura.

Por ello nuestro objetivo es caracterizar el comportamiento del genotipo RB de *Citrus tristeza virus*, estableciendo las características propias de la variante local RB como ser grado de severidad, eficiencia de transmisión, tasa de multiplicación, entre otras, y fundamentalmente cuantificar los efectos sobre el crecimiento y desarrollo de *P. trifoliata* y plantines cítricos.

Programa nacional de saneamiento y certificación de cítricos (PNSCC) y “plataforma” de diagnóstico de virus y viroides.

Ana Bertalmío¹, Oscar Joffré¹, Roque Rolón¹, Luis Malaquina¹, Anny Barboza¹, Johan Ghelfi¹, Diego Maeso¹, Gabriel Fontán², Carlos Da Rosa², Federico Montes³, Mario de los Santos³, Cristian Inzaurrealde³, Fernando Rivas¹.

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria.

² Instituto Nacional de Semillas.

³ Dirección General de Servicios Agrícolas / Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca.

Correspondencia: abertalmio@inia.org.uy

En 2010, con la firma de un Convenio Interinstitucional entre el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Instituto Nacional de Semillas (INASE), Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca, División General de Servicios Agrícolas (MGAP/DGSA) y la Comisión Honoraria Nacional del Plan Citrícola (CHNPC) se retomó la implementación del Programa Nacional de Saneamiento y Certificación de Cítricos (PNSCC), respondiendo a los lineamientos establecidos en el Plan Estratégico de la Citricultura (Caputi y Montes, 2010) aprobado el mismo año, el cual tiene como principal objetivo promover la competitividad del Sector Citrícola.

En ese marco del Plan Estratégico, el PNSCC está diseñado para atender tres áreas fundamentales para impulsar la competitividad: a) producción de material de propagación con calidad genética y sanitaria; b) trazabilidad y c) certificación. Con roles y responsabilidades claramente definidas, cada Institución participante aporta al fortalecimiento de este proyecto que ha sentado las bases de una citricultura competitiva y democrática, al permitir el acceso de material saneado a todo viverista registrado que cumpla con los requisitos legales establecidos en el Estándar Específico para la Producción y Comercialización de Materiales de Propagación de Cítricos (en adelante, “Estándar Específico”), obligatorio desde el 1 de enero de 2014.

Cada etapa consta asimismo de protocolos acordados y aprobados por todas las partes integrantes del acuerdo. Para el saneamiento se aplican las técnicas consideradas hasta la fecha como las más eficientes para la eliminación de enfermedades transmisibles por injerto, basadas en termoterapia y microinjertación de ápices caulinares con un máximo de 3 primordios foliares. Esta actividad se realiza en INIA Salto Grande y los microinjertos obtenidos se trasladan *in vitro* a INIA Las Brujas, donde se realiza el proceso de adaptación a cultivo en invernáculo mediante “sobreinjertación” en portainjertos vigorosos cultivados en invernáculo a prueba de áfidos.

En la etapa de comprobación sanitaria, INIA ejecuta mediante diagnósticos serológicos, biológicos y moleculares, los controles de las enfermedades no cuarentenarias reglamentadas establecidas en el Estándar Específico, que incluye los virus de la Tristeza (CTV) y de la Psorosis (CPsV), y los viroides de la Exocortis (CEVd) y Caquexia (HSVd). Adicionalmente se realizan controles para Concave Gum. La DGSA realiza los controles para Cancro Cítrico y otras enfermedades cuarentenarias que considere oportuno verificar, aunque no estén incluidas en el Estándar Específico.

Adicionalmente a la obtención de yemas saneadas, a las plantas semilleras de portainjertos se les realiza el control sanitario para CPsV. En ese sentido, INIA es el único proveedor en el país de semilla certificada, para lo cual mantiene dos colecciones de portainjertos en predios de INIA Salto Grande e INIA Tacuarembó.

El mantenimiento del “material de inicio” o Plantas Madre de variedades y la multiplicación del mismo en Bloques de Incremento se realiza en INASE, en tanto que la etapa de comprobación varietal se realiza en módulos de evaluación en INIA Las Brujas.

Como resultado de este trabajo coordinado, desde la entrada en vigencia de la certificación obligatoria, las 29 empresas registradas dedicadas a la producción de cítricos alcanzaron la cifra de 1.610.017 plantas certificadas, las que representan aproximadamente 2.400 ha de nuevas plantaciones, sin considerar cambios de copa. El impacto real del PNSCC en términos de competitividad del Sector Citrícola ya son evidentes en la calidad de las nuevas plantaciones.

Otro punto a destacar asociado a la implementación del PNSCC, es la creación de una “plataforma” de diagnóstico de virus y viroides, como resultado de la interacción e intercambio con especialistas de otros centros de investigación como el Laboratorio de Virología del CENUR Litoral Norte - UdelaR, el Instituto de Investigación en Fruticultura Tropical (IIFT, Cuba) y el Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, Universidad de la Plata, Argentina, lo que ha permitido desarrollar y/o apoyar proyectos de investigación en CTV y CPsV que agregan valor al PNSCC y conformar una red de especialistas en enfermedades transmisibles por métodos propagativos.

Así, como resultado de este trabajo en red, hay más RRHH capacitados en virología de cítricos, con dos tesis de maestría finalizadas y dos tesis de doctorado en curso y paralelamente la comunidad científica internacional ha tomado conocimiento de las actividades desarrolladas y en desarrollo, a través de publicaciones en revistas arbitradas y de presentaciones en eventos tales como congresos y simposios.

HLB en Argentina: nueva enfermedad en cítricos

Juan Pedro Agostini. EEA INTA Montecarlo

Correspondencia: agostini.juanpedro@inta.gob.ar

El Huanglongbing de los cítricos (HLB) es causado por la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* y transmitida por el vector *Diaphorina citri*. En América fue reportada en el año 2004 en San Pablo (Brasil) y tres años más tarde en el límite con Argentina; donde a partir de 2009 representantes de la industria citrícola y de instituciones oficiales implementaron el Programa Nacional de Prevención del HLB. Las medidas comprenden; control de los pasos fronterizos; certificación de viveros; control de la producción, tránsito y comercio de frutas; monitoreo a campo para la detección precoz en hospederos vegetales o en el vector; y difusión para el conocimiento y su prevención. Desde el inicio del programa en la red de laboratorios de INTA se analizaron (mediante PCR y qPCR) un total de 9315 muestras vegetales con síntomas sospechosos y de 18610 correspondientes al vector; equivalente a aproximadamente 10 veces más puntos de muestreos en toda la región citrícola Argentina. Por la existencia del Programa a partir del mes de junio de 2012 se detectó el primer positivo para HLB en plantas de traspatio en Andresito (Misiones), límite con el Estado de Paraná, Brasil. A partir de ese reporte al presente se diagnosticaron como positivos un total de 218 árboles distribuidos principalmente en plantas de traspatio pero también en plantaciones comerciales de toda esa provincia de aproximadamente 300 Km de extensión. Los árboles que resultaron positivos fueron erradicados voluntariamente por los propietarios. Durante el año 2017 se detectaron focos en otras provincias de Argentina Formosa; límite con Paraguay; en arbolado urbano de la ciudad en pomelos y en mirtos *Murraya paniculata*; el otro hospedero de la bacteria y huésped del vector. Este positivo en mirto junto al detectado recientemente en La Banda, Santiago del Estero provincia del NOA, también en arbolado urbano son los primeros reportes en el país. La otra provincia donde se encontró la presencia de HLB fue en pomelos del arbolado urbano de Campo Largo, Chaco alejado de toda producción cítrica comercial.

La baja difusión de HLB observada en la provincia de Misiones puede estar relacionada con la escasa presencia del vector en la zona de contingencia, su baja presencia en trampas adhesivas y la alta presencia de su controlador biológico *Tamarixia radiata*. No obstante, hay otras regiones del Litoral Argentino; tal como Entre Ríos y Corrientes; con alta presencia del vector y baja población del controlador biológico. Las regiones citrícolas del NOA y del Norte de la provincia de Buenos Aires aún se encuentran libres de *Diaphorina citri*.

Las muestras que han resultado positivas en laboratorio corresponden a hojas sintomáticas, mientras que muestras de hojas sin síntomas de la misma planta han resultado siempre negativas para HLB, al igual que las muestras obtenidas con los monitoreos realizados en meses de alta temperatura.

A raíz de la normativa de SENASA de producir plantas en vivero bajo cubierta plástica y malla antiáfidos uno de los grandes problemas fue la disponibilidad de plantas certificadas para nuevas plantaciones; este factor trajo aparejado de que en algunas regiones citrícolas se comenzara a introducir cualquier tipo de material para

implantar; principalmente en las áreas fronterizas con Paraguay y Brasil en el norte del país. Estudios filogenéticos realizados en las muestras positivas detectadas en Misiones muestran relaciones con positivos de HLB realizados en Brasil, República Dominicana, Estados Unidos, México y China entre otras. Las especies con mayor presencia de positivos corresponden a las mandarinas con casi el 50% de los positivos siendo las más frecuentes Ponkan; Nova, Okitsu, Murcott; luego diversas especies de naranjas, y lima Rangpur asilvestrados con aproximadamente 20% de cada una; mientras que el resto corresponden a pomelos y limones. La gran mayoría de las detecciones son en árboles mayores a 10 años y con sintomatología muy restringida a una o dos ramas en el caso de los árboles de traspatio; mientras que en plantaciones comerciales los síntomas son más evidentes y generalmente distribuidos por toda la planta.

El seguimiento de la evolución de HLB en una plantación de mandarina Nova sobre citrange Troyer de 15 años de edad se realizó en el norte de Misiones a partir de la primera detección en dicha quinta comercial en junio de 2015. En esa oportunidad se detectaron dos árboles en el sector norte del lote próximo a una cortina rompeviento de pinos y a 80 metros de una ruta de tránsito de fruta muy fluido. Al cabo de dos años de seguimiento periódico se pudo detectar la presencia de HLB en 6 árboles siendo todos en la región periférica de dicho lote, esto indicaría de que la misma se ha producido por transmisión por el vector; tal como indica la bibliografía, aunque la presencia del mismo nunca fue detectada ni en trampas amarilla adhesivas ni en observaciones visuales. Esto significa un total de pérdidas de 0,75% en el término de 2 años; relativamente muy inferior a reportes de otras regiones citrícolas de San Pablo, Brasil; Florida, USA y/o Colima, México.

Algunos aspectos que se deberían tener en cuenta para mejorar la efectividad del programa es el de mantener y mejorar los canales de comunicación y de capacitación a todos los sectores involucrados con énfasis en el común de la gente que son los que menos conocimiento tienen sobre el riesgo que conlleva la introducción de la enfermedad; y las fuerzas de seguridad que deben controlar el tráfico de frontera. Continuar mejorando los métodos de diagnóstico de la enfermedad para una mayor sensibilidad de los mismos; rigurosos procesos de fiscalización de la producción de plantas certificadas y de cumplimiento de las normativas vigentes para el traslado de frutas; mantener la periodicidad de los monitoreos para la detección temprana de síntomas y ajustar los métodos de detección del vector según niveles poblacionales del mismo y región implicada; lo cual requiere de procesos de I+D en cada una de las mismas donde la citricultura sea considerada.

Debido a que HLB se encuentra difundida en diversas regiones citrícolas del continente y del mundo es conveniente afianzar la citricultura de cada región en base a material genético conocido que garantice sanidad y fidelidad varietal. Si bien no se conoce resistencia a HLB el uso de portainjertos trifoliados y/o sus híbridos aparentemente disminuye los riesgos de la enfermedad, como así también la esperanza de que algún material transgénico pueda resultar efectivo en un relativo corto plazo de tiempo para el control de la enfermedad y que resulte atractivo para el mercado.

Impacto del manejo de Huanglongbing en plantaciones cítricas de Cuba

Lochy Batista-Le Riverend, Daylé López-Hernández, Inés Peña-Bárcaga, Maritza Luis-Pantoja, Camilo Paredes-Tomás, **Lester Hernández-Rodríguez**, Victoria Zamora-Rodríguez, Caridad González-Fernández, Doris Hernández-Espinosa, Jorge L. Rodríguez Tapia, Juan C. Casín-Fernández, Jorge R. Cueto-Rodríguez.

Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. Ave. 7ma # 3005. Playa. C.P 11300. La Habana. Cuba.
Correspondencia: lochyb@ceniai.inf.cu.

La enfermedad huanglongbing (HLB) de los cítricos fue informada en Cuba en el año 2007 asociada a la proteobacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLAs). Su vector, *Diaphorina citri* Kuwarama (Hemiptera: Psyllidae), está presente desde 1999 (Luis *et al.*, 2009). Desde la detección de HLB se estableció un programa de manejo del complejo bacteria-vector, basado en la capacitación del personal, siembra con material de propagación certificado, inspección y erradicación sistemática de plantas sintomáticas, monitoreo y control químico del vector (López *et al.*, 2014). En prospecciones realizadas en todo el país se han observado diferencias entre áreas productoras de cítricos con diferentes escenarios de manejo y epidemiológicos. La incidencia de plantas enfermas ha disminuido en las plantaciones en desarrollo con un eficiente manejo de la enfermedad y su vector. Las principales investigaciones relacionadas con HLB en Cuba incluyen la caracterización de la sintomatología asociada a HLB en cultivares cítricos de importancia económica y estudios de transmisión por injerto y mediante el vector. Por otra parte, se llevan a cabo estudios de la dinámica espacio-temporal de este patosistema y se evalúa la efectividad de las estrategias de manejo en las principales regiones cítricas.

Como soporte de esta estrategia de manejo se establecieron y se validaron varios moleculares para la detección de CLAs. El método de PCR dúplex con los cebadores GB1/GB3 y rplA2/rplJ5 para el diagnóstico simultáneo de las tres especies de *Ca. Liberibacter*, permitió confirmar que la única especie circulante en Cuba es CLAs. La PCR anidada con los cebadores fD1 y rP1 para la primera reacción y OI1/OI2c para la segunda reacción permitió obtener resultados más confiables para la certificación del material de propagación en el país, en muestras foliares con diferentes síntomas, así como en muestras de adultos y ninfas de *D. citri*. En el período de 2006-2017 se han analizado un total de 2954 muestras, de las cuales 1797 resultaron positivas para CLAs. El síntoma que mostró porcentajes más altos de coincidencia con los resultados positivos de las diferentes PCR, fue el de moteado asimétrico (93,4%).

Particularmente en la empresa Agroindustrial de cítricos Ceballos, Ciego de Ávila, una de las principales regiones cítricas de Cuba, se observaron las primeras plantas con síntomas asociados a HLB en septiembre de 2006. Durante 2007- 2008 se detectó una elevada incidencia de plantas sintomáticas con amplia distribución en las 4476,3 ha totales de cítricos, lo que trajo considerables pérdidas. A partir del año 2008 se comenzó a ejecutar el programa nacional de manejo de HLB y se establecieron estrategias adecuadas a las características de la región, que se perfeccionaron con el tiempo. Este programa incluyó la inspección mensual y erradicación sistemática de plantas con síntomas de HLB, monitoreo semanal y control químico del vector con aplicaciones coordinadas por señal de presencia,

preventivas prebrotacionales y en los bordes de los campos, demolición de áreas enfermas y abandonadas y siembra con material de propagación certificado en bloques aislados hasta cinco kilómetros de plantaciones comerciales con HLB. En un período de tres años a partir del establecimiento del programa de manejo, la incidencia de plantas con síntomas de HLB disminuyó desde 57 hasta 6 %, como resultado de la erradicación de 2670.81 ha de productores privados y 1805.49 ha estatales que se encontraban enfermas o abandonadas. Posteriormente la incidencia de HLB se ha mantenido por debajo de 5 % y han disminuido considerablemente las poblaciones del vector. Este resultado indica que es posible realizar un manejo eficiente de HLB y convivir con esta enfermedad.

CONCLUSIONES

El impacto económico de HLB en la citricultura cubana ha sido significativo, más existen soluciones alternativas para enfrentarlo que permiten continuar su desarrollo futuro.

Los resultados preliminares de los estudios de la epidemiología de la enfermedad sugieren que el manejo de HLB es posible si se basa en la siembra con material de propagación certificado, el control de las poblaciones del vector y la eliminación de plantas enfermas.

Es posible la convivencia con HLB y su vector (disminución de la incidencia de HLB y la presencia de *D. citri* en áreas comerciales de cítricos).

Una estrategia rigurosa y más extensiva o regional, que involucre áreas comerciales, pequeños productores y con regulaciones estatales para el sector residencial, garantizará mejores resultados en la convivencia con la enfermedad.

Necesaria evolución hacia el empleo de tecnologías de punta y sostenibles en el cultivo de los cítricos que conducen a la obtención de mayores rendimientos y aceleran la entrada en producción de las plantaciones.

Imprescindible la diversificación de las producciones como la siembra de otros frutales intercalados entre los cítricos, como una solución para el aumento de las fuentes de empleo y elevación del nivel técnico de los productores y técnicos relacionados con el cultivo de los cítricos.

REFERENCIAS

- López-Hernández, D., M. Luis-Pantoja, R. Llauger-Riverón, C. González-Fernández, J.C. Casín-Fernández, I. Peña-Bárcaga, L. Batista-Le Riverend, L. Hernández-Rodríguez, V. Zamora-Rodríguez, D. Hernández-Espinosa. 2014. Situación de huanglongbing de los cítricos en Cuba siete años después de su detección. *CitriFrut* 31 (2): 3-9.
- Luis, M., C. Collazo, R. Llauger, E. Blanco, I. Peña, D. López, C. González, J.C. Casín, L. Batista, E. Kitajima, F.A.O. Tanaka, R.B. Salaroli, D.C. Teixeira, E.C. Martins, J.M. Bové. 2009. Occurrence of citrus huanglongbing in Cuba and association of the disease with *Candidatus Liberibacter asiaticus*. *J. Plant Pathol.* 91: 709-712.
- López, D., A. Borroto, N. Carvajal, D. Pérez, L. García, L. Batista. 2013. Primeros resultados en el manejo de huanglongbing de los cítricos en Ciego de Ávila, Cuba. *CitriFrut* 30(2): 65-67.

Fluctuación de poblaciones y distribución espacial de *D. citri* en los cuadros de cítricos

Buenahora J.¹, Pereira das Neves, V.¹; Galván V.¹, Franco J.², Rodríguez A.¹, Amaral J.¹

¹ Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

² Facultad de Agronomía. Universidad de la República.

Correspondencia: jbuenahora@inia.org.uy

INTRODUCCIÓN

En la década del 2000 la incidencia del Huanglongbing (HLB) en las Américas tomó proporciones inesperadas pues la enfermedad se reportó en las mayores áreas citrícolas de San Pablo, Brasil en 2004 y luego en Estados Unidos en 2005. Esta enfermedad, que es muy antigua pues se conoce en China desde 1919, en la actualidad se encuentra diseminada en el mundo afectando muy severamente la producción de los cítricos. Entre los vectores de las bacterias asociadas al HLB, *Diaphorina citri* es considerado el más importante debido a su amplia distribución y características biológicas (Yamamoto et al., 2014).

De acuerdo con Gómez-Torres (2009) *D. citri* presenta 5 instares ninfales que son prácticamente inmóviles en los brotes de las plantas. Ninfas y adultos siempre están asociados a brotaciones jóvenes donde se alimentan y oviponen a falta de brotes tiernos los adultos igual sobreviven.

Así como otros insectos el ciclo biológico de *D. citri* es afectado por la temperatura determinándose que la duración de la fase ninfal varió de 10,6 a 39,6 días y el ciclo biológico de 14,4 a 49,3 días entre 28 y 15°C. Entre 10 y 33 °C el psílido se desarrolla aunque se ha concluido que temperaturas entre 25 y 28°C son las más adecuadas, tomando 20-22 días el ciclo a 25°C. Temperaturas por encima de 32,5 °C derivan en una mayor mortalidad ocurriendo porcentajes mayores al 80%. Los machos pueden vivir en promedio 21-25 días y las hembras 31-32 días a 24°C aunque se han reportado longevidades máximas de adultos de 117 días a 15°C. Los adultos de *D. citri* se pueden “aclimatar” a las condiciones del invierno cuando están expuestos a bajas temperaturas observándose sobrevivencia luego de estar varias horas expuestos a -6°C. La temperatura también afecta la postura de huevos, registrándose mayor número y viabilidad a 28°C (Liu y Tsai, 2000; Nakata, 2006; Nava et al., 2007; Hall et al., 2011).

La humedad relativa (HR) y las precipitaciones pueden afectar la sobrevivencia de *D. citri* observándose un mayor desempeño a HR por encima del 50% aunque si son superiores al 90% también la perjudica. Meses con precipitaciones superiores a 150 mm pueden tener efectos nocivos en las poblaciones ya que producen arrastre de estados inmaduros de la superficie vegetal (Aubert, 1987; Gomez -Torres, 2009).

La capacidad de dispersión del psílido no es alta, observándose que el viento es otro factor que puede colaborar con la misma. Tomaseto et al.(2012) mencionan que ante la presencia de brotaciones los adultos se dispersan menos o no se dispersan concluyendo que *D. citri* realiza sus movimientos dependiendo de la condición

fenológica de su hospedero, fundamentalmente las brotaciones. La luz también influencia el movimiento del insecto observándose que la mayor movilidad ocurre durante el día (Setamou et al., 2012).

MONITOREO DE DIAPHORINA CITRI. ANTECEDENTES

La presencia y la abundancia relativa de adultos de *Diaphorina citri* se puede determinar por el método del Tap (golpear la rama sobre una superficie que permita contarlos) y el uso de trampas amarillas con adherente. La población de huevos y ninfas se puede constatar haciendo la extracción y observación de los brotes en lupa. Todo ello se realiza, de manera secuencial, durante las diferentes épocas del año en los cuadros de cítricos (Hall et al., 2010).

A partir del año 2006 se realizaron los primeros trabajos de seguimiento y estudio de las poblaciones de *D. citri* en diferentes sitios de producción citrícola de Uruguay (Asplanato et al., 2011). Se determinó que *D. citri* se encuentra bastante extendida en el norte del país aunque no se detectó su presencia en el sur. La plaga aparece en algunos sitios de manera constante mientras que en otros es ocasional. Todas las brotaciones son atacadas mientras que la fluctuación de las poblaciones no mostró un patrón definido en las estaciones del año. La abundancia fue diferente entre años y parcelas observándose efectos negativos de las temperaturas invernales de 2007, con fuertes heladas. El desarrollo del brote influyó sobre la abundancia de las poblaciones que fueron mayores en brotes más jóvenes. La evaluación de los métodos de monitoreo determinó que el golpeo es un método eficaz de muestreo de adultos para determinar la presencia del psílido en las ramas y un buen estimador de la densidad de adultos mientras que las trampas amarillas no fueron eficientes cuando las poblaciones son bajas.

SITUACIÓN ACTUAL

A partir de 2014 se instalaron los trabajos en 2 predios citrícolas del norte de Uruguay, uno en Paysandú (paraje Queguay) sobre Washington Navel y Salustiana con riego y el otro en Salto (Colonia Itapebí) sobre Lane Late y Navelina sin riego. Para el monitoreo quincenal de las poblaciones se utilizan trampas amarillas con adherente, Tap y observación visual de brotes mientras que también se registra la evolución de las brotaciones. Cuando se hacen se anotan los tratamientos de las diferentes parcelas a la vez que temperatura, humedad relativa y precipitaciones se constata mediante sensores.

Los resultados de los dos primeros períodos de estudio (2014-2015 y 2016-2016) en Queguay (W. Navel) indican la tendencia que la época de mayor captura de adultos por trampas amarillas y Tap es en otoño-invierno aunque las poblaciones fueron bajas. En estas épocas la mayor proporción de los brotes registrados no eran jóvenes. Seguramente las trampas amarillas registran los momentos donde el adulto se mueve y busca brotes aptos para la oviposición. Generalmente cuando predominan brotes tiernos, la movilidad de adultos desciende y no son registrados por este tipo de trampas. No obstante esto Miranda et al. (2017) mencionan que las trampas amarillas son el registro de todo lo que ocurre en el período entre observaciones mientras que el Tap es el registro puntual del día que se realiza. En Brasil indican que con bajas poblaciones de *D. citri*, en cuadros con manejo de

insecticidas, las trampas amarillas son más efectivas para detectar a *D. citri* que el Tap.

Por otra parte, en este mismo sitio, se observa que la fluctuación de las poblaciones no mostró un patrón definido para las mismas estaciones del año (otoño) entre ambos períodos. El Tap registró altas poblaciones en otoño 2014-2015 mientras que en 2015-2016 no ocurrió lo mismo. Seguramente el efecto de las precipitaciones mayores a 150 mm mensuales en este último período con temperaturas promedio menores a 20°C afectó la actividad del psílido.

Por otra parte comparando el registro de estadios inmaduros en brotes entre las primaveras de ambos períodos indica que en nuestras condiciones no es suficiente la existencia de brotes tiernos para el incremento de las poblaciones de Diaphorina, debiéndose tener en cuenta la sensibilidad del psílido al exceso de lluvias y las temperaturas no óptimas tal cual lo indica la bibliografía.

Para el período 2016-2017, aunque el flujo de brotaciones fue importante durante la primavera-verano, las poblaciones de adultos y de inmaduros por brote fueron menores. Las intensas precipitaciones ocurridas durante todo el período con temperaturas promedio que no superaron los 20°C seguramente afectaron su performance.

Respecto a los monitoreos en Salto (Colonia Itapebí) el mayor registro de adultos con trampas amarillas coincide con el otoño aunque el segundo período (2015-2016) los valores fueron mucho menores, seguramente afectados por las intensas lluvias (780mm). Los registros del Tap son mayores a las trampas amarillas aunque también fueron negativamente afectados por las precipitaciones del mismo período. La mayor población de inmaduros por brote siempre se concentró en primavera-verano aunque la misma fue mayor cuando las lluvias registradas fueron menores (2014-2015).

Para el período 2016-2017, aunque el flujo de brotaciones se concentró durante la primavera-verano, las poblaciones de inmaduros fueron muy bajas. También ocurrieron precipitaciones durante todo el período aunque las temperaturas promedio fueron mayores a 20°C.

Los estudios continúan, preliminarmente podemos decir que:

- El Tap (golpeo) es un método muy eficiente para detectar la población de adultos que hay en el cultivo. En invierno, sin brotación, parece detectar muy bien la presencia de Diaphorina.
- Las trampas amarillas pueden ser una buena herramienta para monitorear el movimiento de las poblaciones en el cuadro, no solo en las épocas de primavera y verano sino cuando los brotes maduran.
- Períodos con precipitaciones copiosas, por encima de 100mm, parecen tener un efecto muy negativo sobre las poblaciones de Diaphorina.

- *Diaphorina citri* se muestra sensible a las temperaturas que afectan su performance biológica. En este caso temperaturas medias menores a 20°C afectaron su desempeño en el cuadro de cítricos.

Distribución espacial de estados inmaduros y adultos de *Diaphorina citri*.

Durante el período 2007-2010 se realizaron trabajos para determinar la distribución espacial de *D. citri* en dos parcelas de cítricos, en Salto (Tangor Ortanique) y otra en Paysandú (W. Navel) (Asplanato et al., 2011). Se concluyó que los estados inmaduros presentan una distribución agregada en ambas parcelas, sin embargo para los adultos, en W. Navel presentaron una distribución aleatoria mientras que en Tangor Ortanique fue agregada. Nuevos trabajos podrían ser necesarios para corroborar estas situaciones en otros sitios y años.

Actualmente se está procesando la información generada en los actuales trabajos y obteniéndose los primeros mapas de distribución en el espacio de los diferentes estados de *D. citri* de acuerdo a los métodos de monitoreo y los períodos de brotación para las parcelas de paraje Queguay en Paysandú y colonia Itapebí en Salto.

BIBLIOGRAFÍA

- Asplanato G, Pazos J, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L, Franco J. 2011. El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): Primeros estudios bioecológicos en Uruguay. Serie FPTA-INIA 28.
- Aubert, B. 1987. Trioza erytrae Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies. *Fruits* 42: 149-162.
- Gomez-Torres, ML. 2009. Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae). Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 138 p.
- Hall DG & Hentz MG (2010) Sticky trap and stem–tap sampling protocols for the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology* 103: 541–549.
- Hall, DG; McCollum, G. 2011. Survival of adult asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) on harvested citrus fruit and leaf. *Florida Entomologist* 94(4): 1094-1096.
- Liu, YH; Tsai, JH. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Annals of Applied Biology* 137: 201-206.
- Miranda MP, dos Santos FL, Bassanezi RB, Montesino LH, Barbosa JC, Sétamou M. 2017. Monitoring methods for *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) on citrus groves with different insecticide application programmes. *J Appl Entomol.* 00:1–8.
- Nakata, T. 2006. 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* 41(3): 383-387.
- Nava, DE; Torres, MLG; Rodrigues, MDL; Bento, JMS; Parra, JRP. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and different temperatures. *Journal of Applied Entomology* 131: 9-10.
- Sétamou, M; Sanchez, A; Patt, JM; Nelson, SD; Jifon, J; Louzada, ES. 2012. Diurnal patterns of flight activity and effects of light on host finding behavior of the asian citrus psyllid. *Journal of Insect Behavior* 25(3): 264-276.
- Yamamoto PT, Rodriguez Alves G, Beloti VH. 2014. Manejo e controle do Huanglonbing (HLB) dos cítricos. *Investig. Agrar.* 16(2):69-82.

***Tamarixia radiata*, ajustes de la cría y primera liberaciones**

Galván V.¹, Pereira das Neves, V.¹, Rodríguez A.¹, Amaral J.¹, Buenahora J.¹, Amorós M.E.²

¹Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

²Facultad de Química. Universidad de la República

Correspondencia: jbuenahora@inia.org.uy

INTRODUCCIÓN

Diaphorina citri (Hemiptera: Psyllidae) está presente en Uruguay y representa una gran amenaza para los cítricos por ser un eficiente transmisor del Huanglongbing (HLB). Aunque dicha enfermedad no está en el país, la cercanía geográfica a otros que se encuentran afectados implica un alto riesgo. En esta situación y con una citricultura enfocada en la exportación de fruta fresca, con mercados muy exigentes en el límite máximo de residuos en la fruta y muy pocos productos posibles de utilizar, el control biológico como una herramienta del manejo integrado de plagas se considera prioritario.

Si bien existe en los montes cítricos de Uruguay una fauna nativa capaz de contribuir al control natural de *D. citri*, se ha reportado que el parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) ha sido utilizado en programas de control biológico clásico, reduciendo de forma significativa las poblaciones de *D. citri* en diferentes regiones del mundo (Skelley y Hoy, 2004). La potencialidad de las liberaciones del parasitoide para el control biológico de *D. citri* ha sido citado en Islas Reunión, Guadalupe (Étienne et al., 2001) y Taiwan (Chien y Chu, 1996). En Brasil, en estudios iniciados en la primavera de 2004, en el estado de San Pablo se constató la ocurrencia natural de *Tamarixia radiata*. El parasitoide fue registrado en todas las áreas cítricas del Estado presentando niveles de parasitismo variables entre el 27,5 a 80% (Gómez Torres et al., 2006). Su cría masiva y el uso potencial en Brasil ha sido reportado por Parra et al. (2016). Actualmente Fundecitrus lleva adelante un programa de cría masiva incluyendo el parasitoide en un programa de manejo regional liberando en traspatios y predios abandonados (Bassanezi y Miranda, 2017 com. pers.).

En nuestro país, *Tamarixia radiata* fue reportado en 2006, a partir de allí se lo detecta en forma errática y en bajas densidades. El máximo parasitismo natural que se constató en campo fue del 50% en verano, no logrando ser de gran impacto (Asplanato et al., 2011).

Con el fin de criar a *T. radiata*, en 2014, se decidió ajustar la cría de *D. citri* sobre hospederos alternativos a *Murraya paniculata*. Inicialmente se evaluó la preferencia de la plaga sobre 6 especies de cítricos disponibles a nivel local: Cidro (*Citrus medica*), Limón Eureka (*Citrus limon*), Limón Cravo (*Citrus limonia* L Osbeck), Limón rugoso (*Citrus jambhiri*), Naranja dulce (*Citrus sinensis*) y Pomelo Duncan (*Citrus paradisi*). Se concluyó que los mejores materiales vegetales sobre el cual se puede reproducir en nuestras condiciones son Naranja dulce (*Citrus sinensis*) y Limón cravo (*Citrus limonia*) (Buenahora et al., 2015, Pereira das Neves et al., 2015a y 2015b).

AJUSTE DE LA CRÍA DE *D. citri*

En las épocas menos frías del año (primavera a otoño), se trabajó en un invernadero de malla y vidrio, en condiciones semi-controladas, estableciendo un rango de temperaturas de 12-28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) mínimas y máximas respectivamente. Durante el invierno la cría se instaló en una cámara hermética, con temperatura, humedad relativa y luz controlada (25°C, 60% HR).

Para la multiplicación de la plaga se utilizaron jaulas de 46 cm x 46 cm de base y 56 cm de alto construidas con caños de pvc y cerramientos con malla 50 mesh. En su interior se colocaron 5 macetas de plástico negro de 2 y 3 litros con 2 plantas cada una de no más de 30-40 cm de altura y tallos de aproximadamente 1 cm de diámetro. Las plantas se podaban una semana previa a la liberación de adultos con el fin de obtener brotes aptos para la postura de huevos. Se liberaban 120 adultos por jaula con un período pre-oviposición de al menos 10 días. Los mismos se retiraban al séptimo día de su liberación (periodo de postura de huevos). Una vez emergidos los nuevos adultos (transcurridos 10 días del proceso anterior) se colectaban con aspirador eléctrico y se estoqueaban en jaulas con plantas (sin brotes tiernos) con el objetivo de proporcionarles nutrición. Una vez transcurrido el periodo pre-oviposición estaban aptos para ser utilizados nuevamente. Finalizado el ciclo, una vez las plantas salían de la cría se trataban con aceite para eliminar las ninfas remanentes en las mismas, fertilizadas con macro y micro nutrientes, recibiendo también fertilizaciones foliares semanalmente. Luego se las dejaba reposar, en condiciones controladas, al menos un ciclo antes de ser reutilizadas.

El ajuste de la cría de *D. citri* en INIA SG finalizó en 2016. La producción total de adultos, en verano es de 700 individuos por jaula, mientras que en cámara hermética es de 500-550 individuos.

AJUSTE DE CRÍA DE *Tamarixia radiata*

Tamarixia radiata es un ectoparasitoide idiobionte específico de *D. citri* (Flores et al., 2014) que ha recibido durante las últimas décadas gran atención a nivel mundial como consecuencia de la dispersión de la plaga y el HLB, y la posibilidad de incorporarlo a otras estrategias de control en situaciones de presencia o ausencia de la enfermedad.

Se ha reportado que los adultos de *T. radiata* pueden ovipositar inmediatamente de la emergencia, independientemente si fueron o no apareados, debido a que presentan una partenogénesis arrenotoca, es decir las hembras no necesitan ser fecundadas para generar descendencia aunque en esta condición todos serán machos. Prefiere ovipositar en ninfas de 5to instar más que 4to y 3er (Chien et al., 1991a), mientras que otros autores reportan que prefieren parasitar ninfas de 4to y 5to instar (Chu and Chien, 1991), sin embargo hasta el momento en nuestra situación hemos encontrado mejores resultados trabajando sobre ninfas de 3er y 4to instar.

La cría se desarrolló a 25°C, 60% humedad relativa y 16:8 (luz:oscuridad). Gómez-Torres y Nava (2012) reportan 25°C como la temperatura óptima para el crecimiento y parasitación de *T. radiata*. La nutrición de las hembras es un aspecto básico a ser tenido en cuenta ya la misma proporciona proteínas esenciales para la maduración de los huevos (Heimpel y Collier, 1996). Los adultos de *T. radiata* pueden consumir

ninfas (“host feeding”) del 1er al 3er instar y huevos de *D. citri* (Chu and Chien, 1991). Estudios recientes demostraron que la muerte de ninfas por esta causa es muy importante y pueden llegar a 64.9%, mientras que mediante parasitismo se reporta un 10.4%, sumando un control total de 75% aproximadamente (Flores et al., 2014). Se menciona que por acciones combinadas de alimentación y parasitismo una única hembra de *Tamarixia* puede eliminar hasta 500 ninfas de *Diaphorina* durante toda su vida (Chien and Chu, 1996).

Para la cría de *T. radiata* se priorizó el uso de Limón cravo (*Citrus limonia*), ya que sobre Naranja dulce (*Citrus sinensis*), en condiciones controladas, la parasitación no fue buena.

Una vez emergidos los adultos eran colectados, sexados y puestos en grupos de 20 a 25 individuos en tubos de 100 ml con alimento (miel + ninfas 2do y 3er instar de *D. citri*) por 48 h. Luego se liberaban en jaulas con 5 macetas (2 plantas/maceta), 4 de ellas infectadas con ninfas 3er y 4to instar, y otra con ninfas 2do y 3er instar para proporcionarles la mencionada nutrición. En resumen por jaula se liberaban entre 80-100 adultos (50% el primer día, 50% el segundo día), el 70% generalmente hembras y previo a su liberación se alimentaban como se describió anteriormente.

A los 10 días de su liberación se colectaban los brotes con las ninfas parasitadas para llevarlos a cajas de emergencia en condiciones controladas de 27°C y 650 klux. Transcurrido un día emergían los adultos comenzando un ciclo nuevamente. El ajuste de la cría de *T. radiata* finalizó en 2017.

CONSIDERACIONES FINALES

En el verano de 2017 se realizó la primera liberación piloto de *Tamarixia radiata* en condiciones de campo en una quinta comercial de cítricos de la región de Salto. Los resultados fueron muy auspiciosos constatándose parasitismos cercanos al 80%. Inmediatamente nos propusimos escalar la cría con el fin de soportar un plan de liberaciones de mayor escala y paralelamente en sintonía con lo que hemos observado en el exterior (México y Brasil) donde las productividades del parasitoide por jaula, en condiciones confinadas similares a las nuestras pero utilizando a *Murraya paniculata* como hospedero son mayores, decidimos realizar en condiciones controladas una pequeña experiencia de cría de *Tamarixia* sobre este vegetal. Obtuvimos un mayor número de individuos por jaula.

Actualmente transcurrimos un proceso de evaluación y ajuste con el fin de incrementar todo lo posible la producción en nuestras condiciones e instalar una cría masiva de *Tamarixia radiata*.

BIBLIOGRAFÍA

Asplanato G, Pazos J, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L, Franco J. 2011. El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): Primeros estudios bioecológicos en Uruguay. Serie FPTA-INIA 28.

Buenahora J, Pereira das Neves V, Franco J, Galván V, Amorós ME. 2015. Preferencia de oviposición de *Diaphorina citri* en 6 especies de cítricos. VIII Congreso Argentino de Citricultura. Bella Vista- Corrientes.

Chien C, Chu Y, Ku S. 1991^a. Parasitic strategy, morphology and life history of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *China Insect* 11:264-281.

Chien CC, Chu YI. 1996. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. *Biological Pest Control in Systems of Integrated Pest Management*. Reprinted from Food and Fertilizer Technology Center Book Series, Taipei, n. 47, p. 93.–104, 1996.

Chu Y I, Chien CC. 1991. Utilization of natural enemies to control psyllid vectors transmitting citrus greening, pp. 135–145. In K. Kiritani, H. J. Su and Y. I. Chu (eds.), *Integrated control of plant virus diseases*. Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, Taipei.

Étienne J, Quilici S, Marinal D, Franck A. 2001. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Fruits, Paris*, v. 56, p. 307-315.

Flores D, Parker A, Martinez J, Rivas E, Ciomperlik M. 2014. Evaluating the biological control of ACP in the Rio Grande Valley of Texas. *Journal of Citrus Pathology*. Vol 1.

Gómez Torres ML, Nava DE, Gravena S, Costa VA, Parra JRP. 2006. Primeiro registro de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) no Brasil. *Revista de Agricultura, Piracicaba*, v. 81, p. 112-117.

Gómez Torres L, Nava D. 2012. Life Table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at Different Temperature. *Biological and Microbial Control*. 338-343.

Heimpel G, Collier R. 1996. The evolution of host-feeding behavior in insect parasitoids. *Biological Reviews*. 71: 373-400.

Parra J, Alvez G, Ferreira Diniz A, Mendes Vieira J. 2016. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) x *Diaphorina citri* (hemiptera: Liviidae): Mass Rearing and Potencial Use of the Parasitoid in Brazil. *Journal of integrated Pest Management* 7(1):5;1-11.

Pereira das Neves V, Buenahora J, Franco J, Galván V, Amorós ME. 2015a. Estudio de la preferencia de oviposición de *Diaphorina citri*, con chance de elección, en 6 especies de cítricos. VIII Congreso Argentino de Citricultura. Bella Vista- Corrientes.

Pereira das Neves V, Buenahora J, Franco J, Galván V, Amorós, ME. 2015b. Evaluación de la preferencia de oviposición y emergencia de adultos de *Diaphorina citri*, sin chance de elección, en 6 especies de cítricos. VIII Congreso Argentino de Citricultura. Bella Vista- Corrientes.

Control químico y tecnologías de monitoreo de *Diaphorina citri*

Amorós M. E.¹, Galván V.², Pereira das Neves V.², Rodríguez A.², Amaral, J.², Rossini C.¹, Buenahora J.²

¹ Facultad de Química. Universidad de la República

² Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria
Correspondencia: jbuenahora@inia.org.uy

El huanglongbing (HLB) es la enfermedad más destructiva de los cítricos a nivel mundial, causada por las bacterias asociadas al floema '*Candidatus Liberibacter*' spp. Su vector, el psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es considerado la plaga citrícola más importante en la actualidad (Grafton-Cardwell et al., 2013).

La detección de la enfermedad en la región y la presencia del vector en el Uruguay representan una severa amenaza. El monitoreo y control de las poblaciones de *D. citri* son componentes críticos para el control de la enfermedad, por lo que tener un plan de manejo de este insecto permite estar en una posición ventajosa ante el ingreso del HLB al país.

El control químico sigue siendo una herramienta fundamental para el control de las poblaciones de *D. citri* (Boina y Bloomquist, 2015), por lo que un objetivo de este trabajo fue evaluar una serie de productos de bajo impacto así como productos ampliamente utilizados en el manejo de otras plagas citrícolas en montes en producción, candidatos a ser incluidos en un manejo integrado de *D. citri* en las condiciones agroecológicas del Uruguay. Para esto se seleccionaron diferentes principios activos de recomendación internacional a los que se ensayó su actividad insecticida, en condiciones semi-controladas y a campo, en el corto plazo en estadios inmaduros del psílido. Se evaluó también la actividad anti-alimentaria de estos productos y actividad repelente de aceites en adultos de *D. citri*.

Los resultados demuestran consistentemente que los aceites minerales y de soja, productos de bajo impacto para insectos benéficos, con baja residualidad, sin riesgo de generación de resistencia y que no dejan residuos en fruta, resultan una herramienta interesante para un manejo integrado de *D. citri*, contribuyendo al control, mediante diferentes modalidades, tanto adultos como estadios inmaduros de la plaga. A su vez se observó que la utilización conjunta de aceites con coadyuvantes como *Silwet* mejoran la eficiencia de la aplicación, pudiéndose reducir la dosis de aceite manteniendo la efectividad.

La abamectina, el spirotetramat y los aceites de neem resultan alternativas aplicables para la rotación de productos. La selección del producto y el momento de aplicación serán críticos y deberán basarse en el monitoreo de poblaciones tanto de *D. citri* como de otras plagas que puedan ser controladas en simultáneo. La sincronización de aplicaciones para controlar distintas especies y reducir así el número de intervenciones es una estrategia relevante en el contexto de manejo integrado.

A su vez el hecho de que los productos seleccionados no presenten un 100% de mortalidad hace posible que sean compatibles con el control biológico, que se actuará sobre la población remanente; y que esta estrategia es viable de ser implementada en las condiciones actuales del Uruguay, en ausencia de HLB.

Por otro lado, el monitoreo de la plaga es un aspecto fundamental en una estrategia de manejo integrado. La efectividad de las trampas amarillas es debatida y altamente dependiente de la densidad poblacional (Miranda et al., 2017). Se ha demostrado que estímulos emitidos por los brotes tiernos juegan un rol importante en la detección y localización de hospederos de *D. citri* y que ésta utiliza muchas modalidades sensoriales al seleccionarlo, incluyendo visión, gusto, vibraciones y olfato (Stockton et al., 2016). La identificación de potenciales atrayentes puede ser útil en el manejo del comportamiento y control de *D. citri*, aumentando por ejemplo la atracción de trampas amarillas para el monitoreo de adultos, sin embargo hasta el momento no se ha desarrollado una estrategia práctica para la utilización de los mismos. El segundo gran objetivo de este trabajo consistió en el desarrollo de una mezcla sintética atrayente para ser utilizada junto con trampas amarillas, basada en el perfil de compuestos volátiles de una especie cítrica preferida por *D. citri*. Para esto se estudió previamente el perfil de emisión de 2 especies cítricas preferidas: Pomelo Duncan (*Citrus paradisi*) y Naranja dulce (*Citrus sinensis*). En base al perfil de Pomelo Duncan (perfil más simple) se preparó una mezcla sintética (mezcla pomelo: MP) que se evaluó en ensayos de invernadero con adultos de *D. citri* en jaulas, junto con trampas amarillas. Se probaron a su vez los compuestos mayoritarios de la mezcla, limoneno y metil-antranilato de metilo (MMA) y diferentes concentraciones. Se utilizó una colecta de volátiles de naranja dulce como control positivo (volátiles naturales).

Se observó que 3 estímulos aumentaron significativamente la atracción de las trampas amarillas frente a las trampas sin tratar: las trampas tratadas con la MP más diluida capturaron en promedio 2.0 veces más adultos que la trampa sin tratar, el control positivo 1.5 y limoneno 1.4. El MMA no tuvo efecto en ninguna concentración testeada y la MP más concentrada resultó repelente. Es relevante el hecho que la variabilidad en la performance de las trampas tratadas resultó elevada, y este es un hecho indeseable al momento de seleccionar un estímulo poderoso, que resulte consistentemente atrayente para ser utilizado junto con las trampas amarillas. Los volátiles naturales del control positivo mostraron una menor variabilidad, lo que podría estar explicado por la mayor complejidad de la mezcla.

A su vez se observó la relevancia del efecto concentración en la orientación de *D. citri*, con la inversión del efecto atrayente a repelente de la MP a mayor concentración, hecho que también podría explicar la menor variabilidad observada en el control positivo.

Como conclusión, se logró obtener una mezcla sintética simple atrayente a partir del perfil determinado para Pomelo Duncan que no se diferenció significativamente de su compuesto mayoritario, limoneno. Estos resultados muestran que los perfiles de volátiles de hospederos óptimos son una buena fuente para el desarrollo de potenciales estímulos olfativos y que la utilización conjunta de trampas amarillas y volátiles podría mejorar la eficiencia en las capturas de las mismas, y que el efecto

de los compuestos minoritarios y la concentración de los volátiles son aspectos a tener en cuenta para investigación futura de optimización de estímulos.

BIBLIOGRAFÍA

Boina DR, y Bloomquist JR. 2015. Chemical control of the Asian citrus psyllid and of huanglongbing disease in citrus. *Pest Management Science*, 71: 808-823.

Grafton-Cardwell EE, Stelinski LL, y Stansly PA. 2013. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. *Annual Review of Entomology*, 58: 413-432.

Miranda MP, dos Santos FL, Bassanezi RB, Montesino LH, Barbosa JC, y Sétamou M. 2017. Monitoring methods for *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) on citrus groves with different insecticide application programmes. *Journal of Applied Entomology*, 00: 1-8.

Stockton DG, Martini X, Patt JP, y Stelinski LL. 2016. The influence of learning on host plant preference in a significant phytopathogen vector, *Diaphorina citri*. *PLoS ONE*, 11: e0149815.

Identificación de especies de parasitoides y depredadores de *D. citri* (hemiptera: liviidae).

Evelin Pechi, Rodrigo Olano, Gabriela Asplanato.

Universidad de la República. Facultad de Agronomía
Correspondencia: gasplanato@fagro.edu.uy

Diaphorina citri, el psílido asiático de los cítricos, es actualmente una de las plagas más importantes de la citricultura uruguaya por ser vector eficiente de las bacterias *Candidatus Liberibacter* responsables del Huanglongbing (HLB) considerada la enfermedad más destructiva de los citrus a nivel mundial (Bové, 2006). Numerosas técnicas bio-intensivas de manejo han probado ser efectivas contra este psílido siendo los enemigos naturales el mayor componente de las mismas (Khan et al., 2015). Se han citado varias especies de depredadores, parasitoides y entomopatógenos como enemigos naturales de *D. citri* (Sánchez et al., 2015). La generación de conocimientos sobre la fauna benéfica asociada al psílido en las condiciones del Uruguay es básica para el desarrollo del control biológico. El objetivo del presente trabajo es identificar y evaluar las especies de depredadores y parasitoides asociados a *D. citri* en predios comerciales.

En el agroecosistema citrícola del país se encuentran presentes diversas especies de coccinélidos y crisópidos, muchos de los cuales han sido citados previamente como especies asociadas al psílido asiático de los citrus. Las especies colectadas en los muestreos realizados son los coccinélidos *Harmonia axyridis*, *Cycloneda sanguínea*, *Curinus coeruleus*, *Scymnus demerarensis*, *Rodolia cardinalis*, *Cryptolaemus mountrouzieri*, *Chilocorus bipustulatus*, *Calloeneis signata*, *Coleomegilla quadrifasciata*, *Eriopsis connexa* y *Coccinellidae spp.* Los crisópidos colectados fueron *Chrysoperla externa*, *Ceraeochrysa cincta* y una especie del género *Leucochrysa*. Además, se colectó el himenóptero eulófido *Tamarixia radiata*.

ANÁLISIS FAUNÍSTICO DE ESPECIES DE ENEMIGOS NATURALES ASOCIADAS A *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE).

Se realizó un análisis faunístico, se calculó índices que nos permitieron conocer las características de la comunidad de enemigos naturales presentes en predios comerciales asociados a *Diaphorina citri*. Los índices estimados fueron: dominancia, frecuencia, constancia y abundancia. Se calcularon mediante las fórmulas propuestas por Silvera Neto et al. (1976).

Los insectos depredadores colectados fueron principalmente de la familia Coccinellidae (Coleoptera) y Chrysopidae (Neuroptera); las especies predominantes fueron *Harmonia axyridis*, *Cycloneda sanguínea*, *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta*. A su vez, cabe destacar que se colectó un alto número de individuos de la clase Arachnida los cuales no fueron considerados.

En base a los resultados del análisis determinamos que *Harmonia axyridis* y *Cycloneda sanguínea* (coccinélidos); *Ceraeochrysa cincta* y *Chrysoperla externa* (crisópidos) son las especies promisorias como controladores biológicos de la población del psílido. Las poblaciones de crisópidos fueron mayores a las de

coccinélidos durante todo el periodo de evaluación, además presentes a lo largo de todos los años de muestreo.

En el caso de coccinélidos *H. axyridis* fue una especie en general dominante, frecuente y común que podría ejercer un gran control sobre las poblaciones de *D. citri*. Así mismo no debemos dejar de lado que es considerada una especie exótica e invasora en varias partes del mundo con posibles impactos adversos que podrían superar los beneficios de la especie como controlador de plagas (Majerus et al., 2006). Otra especie de importancia de esta familia reportada como asociada a *D. citri* es *Cycloneda sanguinea* en general fue no dominante, rara a muy abundante, accesoria a accidental y poco frecuente a frecuente en función del cuadro evaluado. Michaud (2002) encontró que la abundancia de *H. axyridis* se incrementó en los años posteriores a su introducción en Florida y la de *C. sanguinea* disminuyó, a su vez afirma que esto podría estar dado por las características intrínsecas superiores de la misma (mayor fecundidad y fertilidad, etc) respecto al coccinélido nativo. Esto podría explicar los resultados encontrados en esta investigación acerca de estas dos especies donde el mayor número de coccinélidos colectados fueron de la especie *Harmonía axyridis*. Ambas especies fueron colectadas generalmente durante todo el año en todos los cuadros, mostrando mayores poblaciones entre primavera y verano.

La otra familia colectada y de importancia depredadora del psílido es *Chrysopidae*. De la misma se encontraron durante estos muestreos tres especies. Las más relevantes son *Ceraeochrysa cincta* y *Chrysoperla externa*. Ambas se comportaron de forma similar, éstas fueron dominantes, común a muy abundantes, constantes y frecuentes a muy frecuentes en términos generales. Cabe destacar que la más colectada fue *C. cincta* en relación a todas las especies encontradas. Estos depredadores presentan características favorables para su uso en control biológico como gran voracidad de sus larvas. A su vez, en diversas colectas fue posible observar a larvas de *C. cincta* como *C. externa* predando adultos del psílido. *Chrysoperla externa* (Neoptero: Chrysopidae) es un depredador nativo que se encuentra ampliamente distribuido en América. Pacheco-Rueda et al., evaluaron su preferencia de tamaño de presa de *D. citri* junto a otros crisópidos y encontraron que se alimenta de todos los estadios pero que existe cierta tendencia por consumir los primeros estadios (Ninfa I y II).

EVALUACIÓN A CAMPO DE LOS ENEMIGOS NATURALES

Se evaluó el efecto de los diferentes grupos de enemigos naturales en las poblaciones del psílido. Se utilizó un método experimental de evaluación: método de exclusión. Se basó en las técnicas propuestas por Qureshi y Stansly (2009) y se realizaron 3 tratamientos: (a) barrera pegajosa, (b) jaula de malla gruesa, (c) jaula de malla fina. La barrera pegajosa excluyó depredadores que caminan: hormigas, larvas de coccinélidos, crisópidos y adultos e inmaduros de arañas, para ello se aplicó pegamento en cinco cm de la rama en la base del brote seleccionado. La jaula de malla gruesa solo permitió el ingreso de parasitoides. Como método de exclusión total se utilizaron jaulas de malla fina protegiendo completamente contra depredadores y parasitoides. Además, se realizó un testigo que consistió en jaulas abiertas, para evaluar el efecto de las jaulas sin ninguna barrera de exclusión. Las jaulas de ambos tipos de malla fueron de 35 cm de largo y 30 cm de ancho. Los

enemigos naturales presentes en los períodos de evaluación fueron *Chrysoperla externa*, *Ceraeochrysa cincta*, *Harmonia axyridis*, *Cycloneda sanguínea* y *Tamarixia radiata*.

Se observó un efecto significativo de los enemigos naturales sobre las poblaciones de *D. citri*, los tres métodos de exclusión utilizados en los ensayos difirieron del control presentando mortalidades inferiores que este. No se observaron diferencias entre exclusión total y exclusión de depredadores, es decir no existió un efecto significativo del parasitoide *Tamarixia radiata* a pesar que en el último año se hicieron liberaciones del mismo. Se encontraron diferencias significativas en la mortalidad generacional del psílido en las diferentes estaciones del año con una mortalidad mayor en otoño.

BIBLIOGRAFÍA.

Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal Plant Pathology*. 88 (1): 7-37.

Khan, A.A.; Afzal, A.; Ullah, M.I.; Khan, A.M; Saeed, S. 2015. Asian Citrus Psyllids (Hemiptera: Psyllidae), Its Vectored Disease “Huanglongbing” and Its Eco-Friendly Management. *Applied Sciences and Business Economics*. 2 (3): 1-12.

Majerus, M., Strawson, V. & Roy, H. (2006) The potential impact of the arrival of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), in Britain. *Ecological Entomology*, 31: 207–215.

Michaud, J.P. 2002. Invasion of the Florida citrus ecosystem by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and asymmetric competition with native species, *Cycloneda sanguinea*. *Environmental Entomology*, 31: 827-835.

Sánchez, J.; Mellín, M.; Arredondo, H.; Vizcarra, N.; González, A.; Montesinos, R. 2015. Psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). IN: Arredondo, H. y Rodríguez, L. Casos de control biológico en México. México, Biblioteca Básica de Agricultura. 339-372

Silveira Neto, S.; Nakano, O.; Barbin, D.; Villa Nova, N.A. 1976. Manual de ecología dos insetos. Piracicaba. Ceres 419p.

Qureshi, J.; Stansly, P. 2009. Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. *Biological control*. 50: 129-136.

Evaluación de Hongos entomopatógenos para el control de *Diaphorina citri*.

Belén Corallo¹; Evelin Pechi²; Gabriela Asplanato²; Lina Bettucci¹; Susana Tiscornia¹

¹Universidad de la República. Facultad de Ciencias

²Universidad de la República. Facultad de Agronomía

Diaphorina citri es un psílido que se alimenta por succión del floema de hojas de *Citrus* spp. y *Murraya* spp. Este insecto inyecta toxinas al alimentarse que producen deformaciones de hojas y brotes, pudiendo incluso ocasionar la muerte de la yema apical. A su vez, las ninfas secretan una sustancia azucarada que permite el desarrollo de hongos causantes de fumagina, lo cual reduce la superficie fotosintética y el valor comercial de los frutos. Este insecto es vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. que causa la enfermedad de Huanglongbing (HLB), enfermedad considerada como la más destructiva a nivel de los cítricos. En nuestro país se ha registrado la presencia del vector en 1991, pero el HLB no se ha encontrado hasta el momento.

El manejo de la enfermedad tiene tres pilares fundamentales: producción de plantas sanas, erradicación de las plantas enfermas y control del vector. Una de las alternativas para el control del vector es el uso de hongos entomopatógenos que infectan a los insectos, llegando a producirse epizootias. El objetivo de este trabajo fue seleccionar cepas de hongos entomopatógenos eficientes para controlar a *D. citri* en plantaciones de cítricos. Para ello, se utilizaron dos cepas de *Beauveria bassiana* y una de *Metarhizium anisopliae* aisladas a partir de cadáveres de insectos colectados en Uruguay y pertenecientes a la colección del Laboratorio de Micología. Se evaluó la virulencia de los hongos en condiciones de invernadero, aplicando 30mL de una suspensión de 1×10^7 esporas viables/mL de agua-Tween (0,02 %) sobre plantines de cítricos infestados con ninfas de *D. citri*. El testigo se realizó aplicando el mismo volumen de agua-Tween (0,02 %).

Las macetas se cubrieron con una malla fina para impedir el traslado de los insectos hacia otras plantas y se colocaron en una cámara cerrada, a 25 °C durante 5 días. Luego se contaron bajo lupa todos los individuos vivos y muertos y se colocaron en cámara húmeda para verificar la infección por hongos. A partir de los resultados obtenidos se seleccionó una cepa de *B. bassiana* y una de *M. anisopliae* para evaluar la virulencia en condiciones de semicampo. Para ello, se realizó la aplicación de los hongos en plantines, de la misma manera que en el ensayo realizado en invernadero, pero en este caso, las macetas con los distintos tratamientos se colocaron debajo de la copa de los árboles en forma intercalada en el interior de una plantación de *Citrus* en un campo de INIA – Salto. Luego de 5 días se recogieron las macetas del campo y se realizó la evaluación del efecto de la inoculación con los hongos entomopatógenos sobre *D. Citri*.

Por otro lado se determinó la viabilidad de los conidios a diferentes temperaturas inoculando una suspensión de conidios de 1×10^3 conidios/mL (agua- Tween 80 al 0,02 %) sobre medio de cultivo PDA y se incubó a 15, 20, 25, 30 y 35 °C durante 20 hs. Se realizaron 5 réplicas y se contaron 200 esporas por placa. La viabilidad se calculó como: conidios germinados / total de conidios x 100. A su vez, se determinó

la viabilidad de los conidios y el crecimiento micelial de los hongos en presencia de oxiclورو de cobre, abamectina y aceite mineral. Se utilizaron tres concentraciones por cada producto, considerando la concentración habitual de aplicación de cada producto a campo y además, una concentración un 30% mayor y un 30% menor. También, se evaluó el efecto de los hongos sobre enemigos naturales de *D. citri* in vitro. Para ello, se aplicó mediante aspersión una suspensión de 1×10^7 esporas viables/mL de cada hongo sobre individuos de *Cycloneda sanguinea*, *Harmonia axyridis* y *Chrysoperla externa*. Luego se determinó el número de individuos infectados con *B. bassiana* o *M. anisopliae*. Ambos hongos fueron capaces de infectar y matar a algunos individuos, desarrollándose y esporulando sobre los mismos al quinto día de inoculados los hongos.

El porcentaje de mortalidad de *D. citri* producido por una sola aplicación de los hongos entomopatógenos, evaluado a los 5 días, fue alto. En invernadero la mortalidad de *D. citri* fue mayor a la observada en condiciones de semicampo, 85 % aproximadamente con ambos hongos en invernadero y en semicampo fue del 79 % con *M. anisopliae* y 51 % con *B. bassiana*. En ambos casos, se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la mortalidad de los insectos entre el testigo y los tratamientos con hongos entomopatógenos. La viabilidad de los conidios fue alta (mayor al 70 %) entre 20 y 30 °C. En todos los casos se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la viabilidad de las esporas a las distintas temperaturas. Los conidios de ambos hongos fueron incapaces de germinar a 35 °C y en el caso de *M. anisopliae* los conidios no germinaron a 15 °C. El tratamiento con oxiclورو de cobre afectó la viabilidad de las esporas de *Beauveria* y *Metarhizium*. Sin embargo, en la concentración más baja de cobre no se observaron diferencias significativas en la viabilidad de los conidios respecto al control para ninguna de las dos cepas. El tratamiento con abamectina provocó una disminución en la germinación de esporas de *M. anisopliae* y *B. bassiana*, pero en esta última la viabilidad se mantuvo por encima del 90%. En la evaluación con aceite mineral no se observaron diferencias significativas sobre la viabilidad de las esporas entre el control y los tratamientos con *Metarhizium* ($p = 0,959 > 0,05$) ni con *Beauveria* ($p = 0,119 > 0,05$). Todos los pesticidas afectaron el crecimiento de los hongos, mostrando diferencias significativas entre el control y todos los tratamientos para *Beauveria* y *Metarhizium*. En ambos casos el oxiclورو de cobre fue el que produjo mayor reducción del crecimiento, mientras que el aceite mineral tuvo un menor efecto sobre el crecimiento del micelio.

Por otro lado, se observó que la abamectina afectó más el crecimiento de *B. bassiana* que el de *M. anisopliae*. No se observó un efecto importante de los hongos entomopatógenos sobre los individuos adultos de las especies *Cycloneda sanguinea* y *Harmonia axyridis*. Tampoco se observó efecto de los hongos sobre las larvas de *H. axyridis* al ser inoculadas con *B. bassiana* y con *M. anisopliae*, incluso se observó que completaban su ciclo llegando al estado adulto. La virulencia de ambos hongos frente a *C. externa* fue baja. Los insectos adultos fueron más susceptibles a la infección por *M. anisopliae* que las larvas. Tanto *B. bassiana* como *M. anisopliae* resultan promisorios para su aplicación como controladores biológicos de *D. citri*.

Apoyo financiero: INIA-FPTA

Estudio y desarrollo de tecnologías de manejo del taladro de los cítricos *Diploschema rotundicolle*

Amorós M. E., Rossini C., Heguaburu V., González A.

Universidad de la República. Facultad de Química
 Correspondencia: agonzal29@gmail.com

El taladro de los cítricos, *Diploschema rotundicolle*, se está convirtiendo en una importante plaga de los cítricos en Brasil y Uruguay, debido a dramáticos aumentos poblacionales en los últimos años. Las larvas se alimentan de la madera, generando galerías que causan daños directos e indirectos a los árboles, principalmente el debilitamiento de su estructura, el cual puede llegar a ser muy severo, llevando a pérdidas de rendimiento y eventualmente los árboles pueden secarse parcial o totalmente. El manejo de cerambícidos en cultivos es dificultoso; estos insectos tienen largos períodos de desarrollo donde las larvas están protegidas en el interior de la madera, por lo que el control químico se reporta como ineficiente. El único control posible actualmente para este insecto implica la poda de brotes con daños de oviposición, el cual es costoso y su eficiencia es limitada (Machado y Berti Filho, 2006).

La utilización de feromonas ha demostrado ser una herramienta útil y ambientalmente sustentable en el monitoreo y control de plagas. En particular en cerambícidos se han realizado grandes avances en la investigación en este campo, encontrándose que la química de feromonas parece estar muy conservada (Mitchell et al., 2015). El desarrollo de estrategias de monitoreo y control de esta plaga a través de la utilización de semioquímicos, como por ejemplo feromonas sintéticas, se presenta como prometedor.

Durante la temporada 2015-2016 se realizaron los primeros estudios preliminares en nuestro país en *D. rotundicolle*; que permitieron identificar un período tentativo de emergencia de adultos -febrero-marzo. A su vez los resultados mostraron que las trampas de tipo “cross vane” sumadas a estímulos químicos y lumínicos podrían ser efectivas para capturar estos insectos. También se realizaron los primeros estudios de la feromona de *D. rotundicolle*, se observó que los machos producen una cantidad importante de un compuesto típicamente mayoritario de feromonas de distintas especies de la sub-familia Cerambycinae: (R)-3-hidroxi-2-hexanona, sumada a otros compuestos minoritarios que resta identificar. Tanto las antenas de machos como de hembras respondieron al compuesto natural, sugiriendo que el mismo podría funcionar como feromona de agregación para *D. rotundicolle*, como ha sido descrito en otras especies.

A partir de dichos antecedentes se propuso un nuevo proyecto cuyo objetivo final es el desarrollo de una tecnología sustentable de control que contribuya a bajar las poblaciones del taladro de los cítricos a niveles tolerables. Los objetivos específicos propuestos incluyen

- Estudiar el pico de vuelos de adultos de *D. rotundicolle*, para determinar el momento y duración de emergencia de adultos y su relación con los parámetros ambientales así como el momento de la noche de mayor actividad.
- Estudiar los volátiles emitidos por el insecto y plantas hospederas. Identificar los componentes minoritarios de la feromona de agregación de machos y compuestos volátiles de cítricos de que puedan actuar como atrayentes sinérgicos de la feromona.
- Evaluar a campo diferentes atrayentes en trampas “cross vane” con el objetivo de seleccionar un dispositivo estímulo-trampa altamente atrayente para *D. rotundicolle*. Entre los estímulos se incluirán feromona y volátiles de planta; y la combinación de atracción por luz en combinación con estímulos químicos.
- Realizar una primera aproximación a un trampeo masivo de *D. rotundicolle*, mediante la utilización del dispositivo trampa-estímulo optimizado, con el fin de lograr una baja significativa de las poblaciones.

La presente propuesta de trabajo pretende aportar conocimiento sobre la bioecología y la comunicación química de esta plaga de difícil manejo, así como el desarrollo de una herramienta eficiente y eco-compatible para el monitoreo y potencial trampeo masivo de *D. rotundicolle*.

BIBLIOGRAFÍA

Machado LA, y Berti Filho EB. 2006. Prática cultural associada ao controle biológico com o fungo *Metarhizium anisopliae* no combate à broca-dos-citros *Diploschema rotundicolle*. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 73: 439-445.

Mitchell RF, Reagel PF, Wong JCH, Meier LR, Dias Silva W, Mongold-Diers JA, Millar JG, y Hanks LM. 2015. Cerambycid beetle species with similar pheromones are segregated by phenology and minor pheromone components. Journal of Chemical Ecology, 41: 431-440.

Estudios realizados para el ajuste de modelos de predicción de la mancha marrón de las mandarinas en condiciones de clima templado

Elena Pérez¹, Leticia Rubio¹, Mercedes Peyrou²

Colaboradores¹: Pablo Alves, Juan Amaral, Oribe Blanco, Andrea Guimaraens, Marcos Richard.

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA)

² Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

Correspondencia: elenaperez@inia.org.uy

La mancha marrón de las mandarinas es una enfermedad que afecta a las mandarinas (*Citrus reticulata* Blanco) y sus híbridos. En el parque varietal de Uruguay, causa pérdidas económicas significativas en Nova y Murcott siendo poco importante en el resto de las variedades.

Para el manejo de la enfermedad se recomienda a) mantener una buena circulación de aire entre las plantas para favorecer el secado rápido de los tejidos susceptible, b) poda y fertilización equilibrada evitando brotes vigorosos y c) tratamientos químicos preventivos que disminuyan las infecciones del patógeno. Sin embargo, en predios donde se aplican las medidas recomendadas, el resultado del control no es satisfactorio. Por ello, el ajuste de los momentos de control mediante modelos de predicción puede contribuir en el manejo adecuado de la enfermedad. Para ello, es importante conocer los períodos de infección en cada región climática particular donde la enfermedad se establece. Para regiones de clima húmedo como el área citrícola de Florida (USA) y secos como la zona mediterránea de España, se realizaron estudios en condiciones de laboratorio y campo que permitieron establecer el efecto de factores ambientales y del patógeno en la epidemiología de la enfermedad. No obstante, esta información no es extrapolable para Uruguay con condiciones de clima templado.

A partir del año 2015, el IIBCE e INIA vienen desarrollando un proyecto de investigación financiado por la ANII “Ajuste del modelo Alter-Rater para el control de mancha marrón de *Alternaria* en mandarina Nova en Uruguay” cuyo objetivo es establecer un modelo predictivo para la infección del patógeno que mejoren el control de la enfermedad. Se están realizando estudios en condiciones de laboratorio y campo en mandarinas Nova y Murcott. En laboratorio se está evaluando el efecto combinado de distintas temperaturas y tiempos de humectación de la hoja en la infección de brotes susceptibles. En campo, mediante el uso de plantas trampa, se está estudiando el efecto de los factores lluvia, temperatura, humedad relativa ambiente y humectación de la hoja en la incidencia de la enfermedad. Los experimentos fueron instalados en 2 establecimientos comerciales en cuadros afectados por la enfermedad en los cuales una estación meteorológica fue instalada en cada dónde se realizan los ensayos. Adicionalmente, en mandarina Nova, se están evaluando modelos de predicción basados en datos de bibliografía.

Datos preliminares indican que en condiciones controladas las infecciones en hojas se producen con temperaturas entre 14°C – 17°C cuando la humectación de la hoja es mayor a 4 hs. En los estudios de campo, se detectaron condiciones para la

infección en las 4 estaciones del año (Otoño, Invierno, Primavera y Verano) comprobándose que el inóculo no es un factor limitante y se encuentra presente durante todo el año. El ajuste de los momentos de control químico considerando factores de clima y fenología de la planta contribuyeron en la disminución de la enfermedad en fruta.

En la presente jornada se presentaran resultados sobre a) los estudios de laboratorio y preliminares de campo, que relacionan la variable de respuesta (incidencia de la enfermedad) y las variables explicativas temperatura, hoja mojada, humedad relativa ambiente y lluvia con el propósito de ser utilizadas para el ajuste de los modelos predictivos, b) ajuste de los momentos de control utilizando factores de clima y fenología de la planta.

Red Tecnológica Sectorial para la Innovación en Postcosecha de Cítricos

UPEFRUY; INIA; IRTA.

La iniciativa de conformar esta Red Tecnológica Sectorial para la Innovación en Postcosecha de Cítricos surge de las cinco principales empresas citrícolas productoras y exportadoras uruguayas: Citrícola Salteña-Caputto, URUD´OR, San Miguel, Guarino y Forbel, asociadas en Upefruy, que conforman también desde el año 2005 un Grupo de Apoyo a las actividades de investigación en postcosecha de INIA.

Las empresas interesadas han detectado una brecha importante entre los conocimientos generados a nivel nacional e internacional en el manejo postcosecha de frutos cítricos y las tecnologías actualmente aplicadas que limitan el escalar en los niveles de competitividad del Sector internacionalmente. Paralelamente, se plantea un análisis detallado y acciones de mejora de las condiciones de trabajo en cada empresa y la identificación de puntos críticos que permita minimizar ineficiencias y optimizar la logística y el manejo de la fruta cítrica una vez cosechada. El objetivo radica en innovar en todo el proceso de manejo de producción de fruta cítrica y en la organización y gestión de diferentes decisiones productivas, potenciando finalmente la comercialización y por tanto, la competitividad de los cítricos uruguayos en el exterior.

Esta red de co-innovación involucra una ágil transferencia de conocimientos y apoyo técnico en el manejo postcosecha de los cítricos basado en la metodología aportada por el IRTA (Cataluña-España), en coordinación con INIA, con el desarrollo de soluciones tecnológicas adaptadas a las condiciones de nuestro país. De esta forma, el trabajo en Red durante 4 años de proyecto permite dinamizar la transferencia de nuevas tecnologías y resultados de investigación y apunta también a la formación de recursos humanos calificados, con una interacción estrecha entre las empresas e Institutos de investigación involucrados.

Los avances obtenidos durante el año 2017 muestran que el modelo de funcionamiento y la metodología aplicada son válidos y que es viable generar cambios con diferentes niveles de inversión e impacto en los resultados empresariales.

El daño por frío en los cítricos durante el almacenamiento y transporte: Estrategias de mitigación

Joanna Lado, Ana Inés Moltini, Pedro Pintos, Eleana Luque.

Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay.

Correspondencia: jlado@inia.org.uy

El daño por frío (DF) durante la postcosecha de frutos cítricos se manifiesta como lesiones deprimidas y amarronadas en la piel, que deterioran la calidad comercial del producto. Distintos factores pre- y post-cosecha influyen en la sensibilidad a este desorden fisiológico, entre los que destacan el genotipo, el manejo agronómico, las condiciones ambientales, así como el agregado de recubrimientos y las condiciones de pre-almacenamiento de estos frutos.

Durante el período 2013-2016 la estrategia de trabajo se centró en la mitigación del daño desde la postcosecha. En este sentido, se hizo énfasis en evaluar el efecto del encerado de frutos (12 y 18% de sólidos), la aplicación de giberelinas-GAs (20 ppm) en la cera y del estado de madurez en la tolerancia a bajas temperaturas de diferentes especies y variedades cítricas.

Los resultados apuntan a un efecto beneficioso de la cera, mientras que no existió efecto de la aplicación de GAs en ninguna de las variedades estudiadas. Además, se verificó que la sensibilidad al DF varía con el estado de madurez, aunque el efecto es dependiente de la especie/variedad. Frutos más maduros resultaron más tolerantes en la mayoría de las variedades, con excepción de Nova y Valencia. Cabe destacar que las acciones o manejos postcosecha únicamente atenúan el desarrollo de esta fisiopatía, lo que resulta insuficientes frente a viajes extensos a mercados que exigen tratamiento cuarentenario contra la mosca de la fruta.

Debido a esto, actualmente se apunta al desarrollo de proyectos de investigación financiados por la ANII, con los objetivos de conocer y modificar la sensibilidad de los frutos a las bajas temperaturas desde el campo (durante el desarrollo del fruto), incluyendo estudios de fertilización y evaluación de expresión de genes asociados a la resistencia a bajas temperaturas (C-repeat binding factors o CBFs), así como el posible efecto de la luz incidente y condiciones ambientales sobre esta tolerancia. También se combinan los mismos con la capacitación de RRHH a nivel de posgrado, los cuales se asocian a estos proyectos de investigación.

Propiconazole. Estudios para el control de la podredumbre amarga en cítricos.

Elena Pérez Faggiani

Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Uruguay.

Correspondencia: elenaperez@inia.org.uy

La podredumbre amarga en cítricos es provocada por un hongo similar a una levadura conocido como *Galactomyces citri-aurantii* E.E. Butler (anamorfo *Geotrichum citri aurantii* (Ferraris) E.E. Butler. Es un hongo habitante del suelo que contamina a la fruta por el salpicado de agua, el viento que arrastra partículas de tierra y por insectos. Generalmente no provoca infecciones en campo, pero sí durante la poscosecha bajo ciertas condiciones de la fruta y del ambiente. Es sensible a la enfermedad la fruta sobremadura expuesta a condiciones de temperaturas y humedad relativa altas. Por ello, la fruta que sufre el proceso de desverdizado es muy propensa a desarrollar la enfermedad. En Uruguay, tradicionalmente el patógeno fue controlado con sulfato de guanidina (Guazatina) obteniéndose muy buenos resultados. Sin embargo, el residuo en fruta que controla a la enfermedad es superior al límite máximo permitido por la Unión Europea (UE) y por otro lado, el sulfato de guanidina no está registrado en Estados Unidos (EEUU) para ser utilizado en cítricos. Esto nos desafió a buscar otras opciones de fungicidas para utilizar en frutas con destino a UE y EEUU. El Propiconazole es un DMI-triazol con comprobada eficacia en el control de la podredumbre amarga de los cítricos. Sin embargo, la falta de información sobre el efecto del producto en Uruguay generó la necesidad de contar con información complementaria utilizando aislamientos del patógeno realizados en Uruguay. Para ello se realizó una colecta de aislamientos de *G. citri aurantii* en predios citrícolas de Uruguay que fueron utilizados para los siguientes estudios aplicados al fungicida Propiconazole: a) estudio de la mínima dosis efectiva para controlar el crecimiento del patógeno sobre fruta contaminada; b) comparar el efecto contra otros fungicidas sintéticos; c) analizar la residualidad efectiva sobre la fruta para el control de la enfermedad y d) incursionar en la búsqueda de fungicidas naturales que puedan complementar el uso de fungicidas sintéticos. En forma complementaria se evaluó el efecto sobre cepas de *Penicillium digitatum* resistentes y sensibles a Imazalil. Como resultado de las actividades realizadas se cuenta con una colección de 164 aislamientos de *G. citrus aurantii* con patogenicidad comprobada en diferentes variedades de cítricos. En Naranja Valencia se observó un control significativo de la podredumbre amarga cuando el residuo sobre la fruta fue de al menos 3 mg kg⁻¹, que en condiciones experimentales se obtuvo por inmersión de la fruta durante 30 s en una suspensión de 1000 ppm de Propiconazole. En mandarina Afourer se obtuvo un control significativo con respecto al testigo, utilizando dosis de 1000 ppm de Propiconazole o Tebuconazole. Las cepas resistentes a Propiconazole no fueron controladas con Tebunconazole. El Ortofenilfenato de sodio no demostró ser efectivo para controlar de la podredumbre amarga. Las cepas sensibles a Imazalil fueron sensibles a Propiconazole, mientras que las cepas resistentes a Imazalil también lo fueron a Propiconazole. El aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides*, efectivo para el control de *P. digitatum*, demostró también ser efectivo para el control de *G. citri aurantirii*.

Estudios en Poscosecha de Cítricos en INTA Concordia

Daniel Vazquez.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). EEA Concordia.

Correspondencia: vazquez.daniel@inta.gob.ar

INTRODUCCION

El uso continuado de los fungicidas tiabendazol e imazalil en los empaques citrícolas de la región del río Uruguay ha llevado a la selección y proliferación de aislamientos de moho verde resistentes, siendo este hongo la principal causa de podredumbres en poscosecha. Desde hace unos años, el fungicida pirimetanil (anilino-pirimidina) se ha incorporado a los programas de control de esta enfermedad.

ACTIVIDADES REALIZADAS EN INTA CONCORDIA EN 2011

En INTA Concordia se elaboró la línea de base de resistencia natural del moho verde al pirimetanil. Para ello, se recolectaron 109 aislamientos del hongo, procedentes de campo y empaque, desde Monte Caseros hasta Concordia. Es importante considerar que esta colección se obtuvo cuando este fungicida prácticamente no era aplicado en la zona.

Se evaluó la acción del fungicida sobre el moho verde mediante la realización de pruebas *in vitro* en laboratorio (fungicida grado técnico). En ellas se calculó la concentración del fungicida que inhibe el 50% del crecimiento del patógeno en medio de cultivo (EC_{50}) en cajas de Petri.

La EC_{50} media de los aislamientos recolectados en el campo fue $0,14 \pm 0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$, no encontrándose aislamientos resistentes; la EC_{50} media de los recolectados en empaques fue $0,13 \pm 0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$. Un aislamiento originado en un empaque mostró una EC_{50} de $3,40 \mu\text{g mL}^{-1}$, 26 veces superior al valor medio.

Posteriormente se realizaron pruebas *in vivo*. En ellas se observaron reducciones del 80% en la incidencia de podredumbres ocasionadas por aislamientos sensibles (de campo o empaque) cuando se aplica pirimetanil (formulado comercial) a la dosis de 500 - 600 mg L^{-1} , en baños por inmersión (60 s, 20°C) a naranjas y mandarinas inoculadas artificialmente. No obstante el aislamiento de empaque resistente al fungicida no fue controlado a la dosis de 1000 mg L^{-1} aplicado de igual forma.

ACTIVIDADES REALIZADAS EN INTA CONCORDIA DESDE 2015

En 2015 se realizó un nuevo estudio, cuyo objetivo fue determinar la resistencia a este fungicida de una nueva colección de aislamientos, obtenida luego de que este principio activo se incorporara a los programas de control en los empaques citrícolas durante un período de aproximadamente 5 años. 122 aislamientos de moho verde fueron recolectados desde Monte Caseros hasta Concordia. Los mismos fueron obtenidos de frutos con síntomas del patógeno en campo (63) y empaque (59). Se determinó la concentración de pirimetanil que reduce el crecimiento de las colonias en un 50% (EC_{50}) para cada aislamiento, en forma similar al estudio anterior.

La EC_{50} media de los aislamientos recolectados en campo fue de $0,16 \pm 0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$. No se observaron aislamientos resistentes en campo donde el fungicida no es usado.

Por el contrario, el 64,4% de los aislamientos recolectados en empaques se muestran resistentes a pirimetanil, con una EC_{50} media de $5,51 \pm 0,37 \mu\text{g mL}^{-1}$. Los sensibles presentan una EC_{50} media de $0,20 \pm 0,02 \mu\text{g mL}^{-1}$.

CONCLUSIONES

La información suministrada en este trabajo resulta importante en el monitoreo de la susceptibilidad del moho verde al fungicida pirimetanil en la región citrícola del río Uruguay. En muestreos en empaques realizados en el año 2011, solo un aislamiento mostró resistencia, lo que representaba el 1,5% de los aislamientos recolectados, EC_{50} de $3,40 \mu\text{g mL}^{-1}$. Por el contrario, en 2015, el 64,4% de los aislamientos presentaba esta característica, con una EC_{50} media de $5,51 \mu\text{g mL}^{-1}$. En ambos muestreos los aislamientos de campo se muestran sensibles a este agroquímico.

Se concluye que la incorporación de pirimetanil en los programas de control de moho verde en los empaques cítricos debe hacerse en forma cuidadosa, debiendo implantarse distintas estrategias. La limpieza y desinfección de los empaques, la rotación o su combinación con fungicidas con distinto modo de acción como el imazalil (formulaciones de ambos), la incorporación de sales de sodio como bicarbonato, etc., contribuirán a lograr resultados efectivos. Estas estrategias minimizan la selección de aislamientos resistentes del patógeno.

SENSIBILIDAD DE CÍTRICOS A ESTRÉS DE FRÍO EN PRE Y POS COSECHA

Estos trabajos se están llevando a cabo conjuntamente con el CEFOTI CONICET UNR a través de proyectos conjuntos. El grupo de trabajo del CONICET está liderado por los Drs. Florencio Podestá y Ezequiel Margarit. De INTA Concordia participan los Drs. Fernando Bello y Daniel Vázquez.

EN PRE COSECHA (HELADAS)

El Objetivo General propuesto se centra en el estudio de la estructura, respuesta y regulación transcripcional de genes del metabolismo primario del carbono en frutos de naranja Valencia Late, mandarinas Ellendale y Murcott sometidos a heladas.

El proyecto intenta contribuir al conocimiento de la estructura de la respuesta metabólica a las heladas en estas variedades. Además, aportar al desarrollo de herramientas para el manejo de frutos helados, en cuanto a la toma de decisiones respecto del destino de la producción y la búsqueda de inductores de la tolerancia al frío que permitan mitigar los daños por heladas en todo el árbol, contribuyendo a disminuir las pérdidas económicas generadas por estos eventos naturales.

En 2016 se realizaron muestreos de frutos de estas variedades en 2 quintas de la región, previa a la helada y luego de ésta. Las muestras se enviaron para su análisis al CEFOTI (cascara y gajos por separado).

EN POS COSECHA

Estudios de tratamientos cuarentenarios por frío en mandarinas W Murcott y Murcott
 Los tratamientos estudiados son:

- Cuarentena (1°C, 15 días) + Transporte (5°C, 10 días) + Comercialización (20°C, 7 días)
- Control: 5°C, 25 días + Comercialización (20°C, 7 días)

Esto estudios se iniciaron este año y por el momento no se observaron síntomas de daños por frío en los frutos expuestos a este estrés.

Se incluyen en este proyecto el estudio de almacenamiento prolongado de estas mandarinas (hasta 90 días) a temperaturas de 1°C y el uso de baños de agua caliente (previos al estrés por frío) para reducir posibles síntomas de daños.

GRUPO DE TRABAJO POSCOSECHA DE INTA CONCORDIA

Dr. Fernando Bello, Dra. Mariángeles Cocco, Ing. Marina Panozzo, Ing. Agustín Gollan

Tec. Nanci Almirón, Aux. Laura Eyman, Dr. Daniel Vázquez.

BIBLIOGRAFÍA

Lado, J.; Luque, E.; Blanco, O.; Pérez Faggiani, E. 2011. Evaluación de alternativas para el control poscosecha de aislamientos de *Penicillium digitatum* resistentes a imazalil. Agrociencia Uruguay 15 (1), 55-63.

Panozzo, M.; Almirón, N.; Bello, F.; Vázquez, D. Caracterización de aislamientos de moho verde (*Penicillium digitatum*) resistentes al fungicida pirimetanil en la región citrícola del río Uruguay. RIA (en prensa).

Pérez, E.; Lado, J.; Luque, E.; Blanco, O.; Alves, P.; Silva, G. 2009. Sensibilidad a pyrimetaniil, fludioxinil e imazalil en aislamientos de *Penicillium digitatum* colectados en Uruguay, in: Hacia un manejo integrado y sustentable de *Penicillium* en poscosecha de cítricos. Serie Actividades de Difusión INIA, N° 597, 3-6.

Smilanick, J.L.; Bylemans, D.; Torres Leal, G.J.; Lesar, K. 2008. Pyrimethanyl a new fungicide for the control of postharvest decay of citrus fruit. Proc. Int. Soc. Citriculture, Wuhan, China, 1296.

Vázquez, D.; Panozzo, M.; Almirón, N.; Bello, F.; Burdyn, L.; Garrán, S. 2014. Characterization of sensitivity of grove and packing house isolates of *Penicillium digitatum* to pyrimethanil. Postharvest Biol. And Technol. 98, 1-6.

Manejo de ‘Nadorcott’ para producir frutos con menos semillas. Trabajos pasados, presente y futuro.

Alvaro Otero¹, Fernando Rivas¹, Estela Santos³ y Yamandú Mendoza²

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande.

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA La Estanzuela.

³ Facultad de Ciencias. Laboratorio de Etología. Montevideo

Correspondencia: aotero@inia.org.uy

La producción de frutos cítricos sin semilla es una característica muy importante que puede aumentar las ganancias de los productores durante la comercialización (Vardi et al., 2008). Esta característica es de particular importancia la variedad ‘Nadorcott’ en Uruguay.

A pesar de su autoincompatibilidad, esta variedad produce una cantidad de semillas variable en función de la intensidad de la polinización entomófila y de la distancia a otras variedades donadoras de polen. Internacionalmente se han implementado tres técnicas para reducir el número de frutos de ‘Nadorcott’ con semillas: a) La instalación de plantaciones aisladas o a distancias importantes de variedades donadoras de polen (Chao et al. 2005); b) La utilización de mallas que cubran en su totalidad la planta impidiendo la entrada de insectos o la aplicación de repelentes de abejas y similares y c) La utilización de reguladores del crecimiento (AG₃) o sulfato de cobre (CuSO₄), con el propósito de acelerar el desarrollo del óvulo, impidiendo la fecundación o a través de la inhibición directa de la germinación del grano de polen (Mesejo et al. 2006, 2008).

Desde el Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola hemos estudiado: a) La distribución espacial del número de frutos con semilla en cuadros comerciales (2009); b) El efecto de la polinización entomófila en la producción de semilla: beneficios y perjuicios ocasionados por las mallas (2009-2010); c) Medidas mitigantes del número de semillas en los frutos: AG₃, CuSO₄ (2009-2010); d) El aumento del número de frutos en plantas bajo mallas: Anillado, AG₃ (2010-2011) y e) La estimación del número de semillas por fruto en cuadros comerciales: tamaño de la muestra (2014) (Otero y Pochintesta 2015; Otero y Rivas 2017).

Actualmente se están desarrollando experimentos con los siguientes objetivos: a) Determinación de la efectividad de las mallas perimetrales en cuadros de producción para disminuir el número de semillas por fruto; b) Estudiar el efecto de las abejas en el estímulo de la partenocarpia de ‘Nadorcott’; y c) La identificación y cuantificación de polinizadores de los cítricos.

Dentro de las perspectivas futuras a desarrollar se encuentran: a) La búsqueda de nuevos repelentes inocuos para los artrópodos en general; b) La implementación de sistemas de producción de alto rendimiento totalmente confinados bajo mallas; c) El aporte de conocimientos etológicos de la abeja melífera, a los efectos de determinar zonas de exclusión mutua.

Polinizadores de Cítricos

Santos Estela¹, Otero A², Machado D², Cardozo W², Malaquina F², Jorge F², Grasso R², Alsogaray Y², Yaque A², Mendoza Y²

¹ Facultad de Ciencias. Departamento de Etología. Montevideo.

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, INIA Salto Grande e INIA La Estanzuela. Uruguay.

Correspondencia: estelsantos@gmail.com

En el desarrollo de la citricultura comercial con fines de exportación, se desarrollan también diversos estudios a los efectos de conocer las mejores características agronómicas y biológicas de los distintos cultivares implantados en Uruguay. Para varios frutales no cítricos se conoce la importancia de poseer vectores polinizadores que aseguren la fecundación cruzada de las flores. Por lo que es importante conocer la diversidad de vectores biológicos que pueden llegar a transportar los granos de polen de una flor a otra, para fecundar los óvulos que éstas poseen. En el caso de los cítricos, donde la polinización puede ser un factor no deseado, ya que estimularía la polinización cruzada y por lo tanto mayor número de frutos con semillas se propone el objetivo de determinar la riqueza de especies y evaluar la actividad de la abeja melífera en contacto con el cultivo de *Citrus*. A tal efecto se implementó un seguimiento de la población de abejas melíferas en un predio comercial del departamento de Salto. Se relevaron los insectos en contacto con las estructuras florales realizando visitas semanales al cultivo durante el periodo de floración, capturando ejemplares de cada tipo para observación microscópica de sus estructuras corporales impregnadas de polen. Las observaciones se realizaron en la mañana y por la tarde, registrando también la actividad específica de la abeja *Apis mellifera* sobre las flores respecto a localizaciones diferentes en el cultivo que se encontraba enmallado en todo su contorno. Como resultados principales se destacan los siguientes: 1) Se determinó una riqueza de 27 especies de artrópodos sobre las flores, que asisten a la flor de citrus en busca de néctar principalmente. Esta riqueza de especies es entendible por la época de floración del citrus, donde no hay muchas especies en el ambiente con su valor nectarífero y polinífero. 2) El análisis de polen sobre el cuerpo de los insectos colectados muestra que al menos el 70% de ellos pueden considerarse como vectores polinizadores. 3) Se obtuvo mayor diversidad de artrópodos en las zonas con áreas linderas de vegetación natural cercana y en momento del día con mayor temperatura. 4) La especie más abundante fue *Apis mellifera*, que no solo busca néctar en la flor sino que colecta polen como recurso de proteína y oligoelementos para sus crías. 5) El sistema de malla perimetral actual no frena el paso de las abejas melíferas ni de otros insectos. Pero se visualiza que las abejas (principal polinizador) no vuelan directamente sobre la malla sino que llegan primero a la malla para encontrar la entrada al cultivo o la salida de éste. Por lo que un buen porcentaje de vuelos se ven atareados y esto disminuye la cantidad de vuelos efectivos que la abeja logra realizar hacia y desde el cultivo. Al mismo tiempo la idea de encierro por variedades aumenta mucho las probabilidades de que las abejas no cambien de parcela una vez que entran al cultivo y entonces no se produce polinización entre variedades encerradas. Este estudio aporta algunos conocimientos de base a la hora de fomentar o excluir los artrópodos polinizadores de cultivos de citrus, que debieran ser incluidos en los programas de manejo de los distintos cultivares que se implantan en Uruguay.

Sistemas de alta producción en ‘Nadorcott’. Trabajos presentes y futuros.

Álvaro Otero¹, Rafael Grasso¹, Fernando Rivas¹, Carmen Goñi².

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande.

² Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande (marzo, 2015).

Correspondencia: aotero@inia.org.uy

La citricultura uruguaya, tradicionalmente enfocada a la exportación de fruta en fresco, ha sufrido en los últimos años cambios importantes en los paradigmas productivos y comerciales. Así, el sector ha tenido que buscar estrategias para posicionarse mejor bajo dos visiones productivas: a) Apuntar a la calidad e inocuidad, con precios poco elásticos y costos incrementales; donde la maximización de los rendimientos exportables se encuentra en balance permanente con los costos de producción y, por otro lado, b) La sustentabilidad ambiental y empresarial. En este escenario la visión empresarial y la gestión son las mejores herramientas de sobrevivencia.

En este sentido, el Programa de Investigación en Citricultura, ha venido validando e investigando en el diseño integrado hacia las nuevas plantaciones de cultivares de alto valor comercial.

Tres grandes líneas de innovación se han implementado actualmente: a) Mejora de la eficiencia de aplicación de nutrientes a través del fertirriego; b) Nuevos sistemas de producción bajo camellones, alta densidad de plantación y portainjertos semienanizantes (79AC); y c) Manejo del suelo con mulches (terminado).

Paralelamente a estos trabajos, se desarrollan herramientas de muestreo a los efectos de evaluar mejor el estado nutricional de los cultivos.

En el futuro próximo se pretende incursionar en los siguientes aspectos o componentes de los nuevos sistemas de producción:

- Control de la calidad del fruto y brotaciones (sanidad) a través del manejo del agua y nutrientes en el suelo.
- Quimigación, manejo de plagas y enfermedades, como cancro cítrico y minador.
- Sistemas de confinamiento total de las plantas.
- Plataforma para ajuste de manejo de las nuevas variedades (Programa de Mejoramiento).

Herramientas para mejorar el riego y fertirriego.

Alvaro Otero¹, Rafael Grasso¹, Juan Carlos Diez² y Carmen Goñi³

¹ Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande.

² San Miguel Global S.A.

³ INIA (marzo, 2015).

Correspondencia: aotero@inia.org.uy

La imperiosa necesidad de satisfacer la demanda mundial de productos agropecuarios es la fuerza motriz de toda la intensificación agrícola. Tres grandes tendencias se combinan para guiar esta intensificación: a) crecimiento de la población mundial; b) creciente calidad de vida y cambios en la dieta de países con alta población y c) presiones sobre las áreas de tierras arables debido a las limitantes de expansión por competición con el urbanismo y por usos alternativos de las áreas de producción de alimentos (biocombustibles) (Hochman et al., 2013).

Dos de los varios atributos que podrían describirse en el proceso de la intensificación agropecuaria son: a) el incremento de la producción agropecuaria y b) el uso eficiente y responsable de los recursos limitados. Ambos atributos son de vital importancia en la producción citrícola actual y futura; donde el concepto de “recurso limitado” no solo abarca el ámbito de “recurso natural a nivel nacional” sino los “recursos concretos de cada empresa” relacionados a la mejora de la gestión, la mano de obra, la tierra, la producción de alimentos inocuos y el medio ambiente.

En este sentido el Programa de Investigación en Citricultura ha venido desarrollado y validando diferentes modelos y herramientas para la mejora de la gestión del riego y el fertirriego; ya sea desde los modelos propiamente dichos a trabajos colaborativos en la automatización de los mismos.

En Uruguay, el régimen pluviométrico local es un recurso complejo: unas veces es escaso y otras veces es en exceso; de allí que el riego en Uruguay es suplementario. Si enfocamos el tema como un recurso escaso, al menos en algunos meses, deberíamos por lo tanto procurar optimizar el riego desde su eficacia y posiblemente desde su eficiencia: Productividad + Costos (energía). En este sentido, es imperativo pensar en maximizar el rendimiento y la calidad de los frutos en función de la cantidad total de agua (precipitaciones + riego suplementario); lo que nos permitirá mejorar la sostenibilidad productiva, reduciendo la alternancia (Goñi y Otero, 2013).

A través de la planificación o programación del riego, podemos medir o estimar la cantidad de agua que realmente está disponible para la planta, a los efectos de tomar decisiones correctas y poder adelantarnos a las necesidades futuras.

Es obvio para todos que REGAR NO ES HECHAR AGUA... pero.... Para hacer un correcto fertirriego, hay que mejorar la gestión del riego.

Se han probado varios modelos efectivos (FAO 56) de obtener balances hídricos del suelo, precisos y confiables en el tiempo. Sobre programación el riego en general, ver Serie Técnica de INIA N° 232, Otero et al. 2017.

Estos modelos, asociados a sensores inalámbricos del contenido de agua en el perfil de los suelos han dado un resultado muy bueno en validaciones experimentales y a nivel comercial. A nivel experimental, se ha reducido enormemente la mano de obra calificada en esta tarea así como un mayor uso del agua, teniendo evapotranspiraciones mayores al ajustar mejor las láminas de riego.

Mejoramiento Genético de Cítricos: nuevas variedades y tecnologías aplicadas.

¹F. Rivas, ¹J. Laxague, ¹E. Adalid, ¹R. Menes, ¹L. Goncalvez, ²J. Lado, ²P. Pintos, ²E. Luque, ³A. Arruabarrena, ³M. Giambiasi, ³A.L. Britos, ³A. Castillo, ⁴A.I. Moltini, ⁵A. Bertalmio, ⁵R. Rolón, ⁵O. Joffré, ⁶E. Pérez, ⁶D. Maeso, ⁶O. Blanco, ⁷G. Ares, ⁷F. Alcaire y ⁸B. Vignale.

¹Mejoramiento Genético. INIA.

²Postcosecha. Estación Experimental INIA Salto Grande.

³Unidad de Biotecnología. INIA.

⁴Laboratorio de Calidad de Fruta. INIA Salto Grande.

⁵Saneamiento de Citrus. INIA Salto Grande.

⁶Fitopatología. INIA.

⁷Sensometría y Ciencia del consumidor. Facultad de Química, UdelaR.

⁸Facultad de Agronomía. Estación Experimental San Antonio. Regional Norte. Universidad de la República.

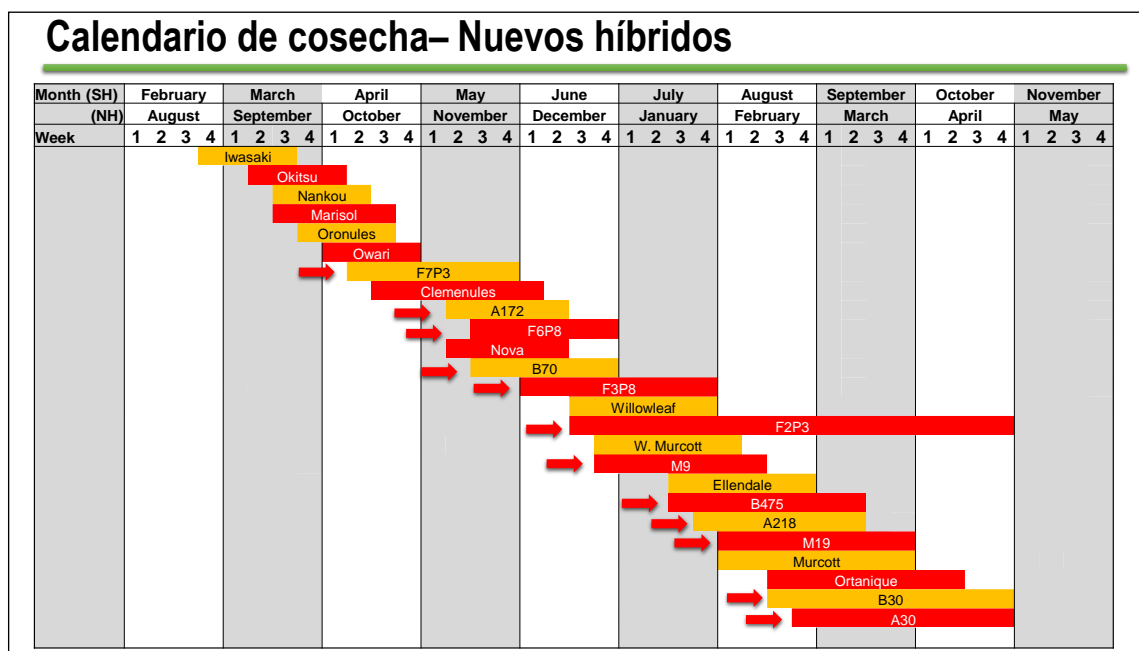
Correspondencia: cfrivas@inia.org.uy

Desde hace varios años el área de Mejoramiento Genético de Cítricos avanza hacia la consecución de alternativas varietales para la mejora de la competitividad del Sector Citrícola Nacional. Como uno de los puntos priorizados en el marco del Plan Estratégico para la Citricultura, el obtener variedades adaptadas a los requerimientos de los mercados de exportación más exigentes, se constituye como uno de los ejes estratégicos a la hora de ser competitivos en el mercado mundial del rubro. Así, el Programa busca entre otros, la obtención de variedades de muy alta calidad interna (sabor, °brix y acidez), de buena coloración, sin semillas, de fácil pelado, buen tamaño de fruta, productividad, tolerancia a enfermedades y buen comportamiento postcosecha. Asimismo la ventana de mercado (época de recolección), debido a aspectos estratégicos de precios, es un aspecto a valorizar al momento de realizar la selección.

Con este fin, se vienen conduciendo trabajos conjuntos con la Universidad de la República-Facultad de Agronomía y Química con el objetivo de evaluar y seleccionar materiales superiores que cumplan con la mayoría de los requisitos impuestos, pasando a una fase de validación en predios comerciales y/o a una fase avanzada de mejoramiento genético. En este sentido, estos materiales han pasado a constituir líneas parentales para nuevos cruzamiento, avanzando también hacia una estrategia de mejoramiento para inducir la ausencia de semillas mediante herramientas mutagénicas y métodos biotecnológicos.

Se presentarán algunos de los híbridos promisorios que se han seleccionado en base a las características previamente mencionadas y que han pasado a fases avanzadas de mejoramiento y evaluación.

Figura: Calendario de cosecha de los nuevos híbridos de mandarina (señalados con flecha) desarrollados por el Programa de Mejoramiento Genético. Se ubican también otras variedades comerciales como referencia.



Nuevas selecciones promisorias.

A151 (Ellendale x M. Común). Mandarina del tipo y sabor a Mandarina Común, de mejor coloración (tipo clementina), mejor sabor (Brix y Acidez). Híbrido muy productivo, fruta de tamaño medio (necesitaría raleo además para controlar alternancia). Buen pelado y se mantiene bien en la planta sin secarse ni mostrando caída precosecha. En las pruebas de degustación A151 fue ampliamente superior a M. Común por lo que se presenta como una mejor alternativa e inclusive a Avana. Resistente a Alternaria. Época de recolección Mayo-Julio (Agosto).

E x F (Ellendale x W. Murcott). Híbrido de maduración tardía, de muy buen color, sabor y brix. Fácil de pelar y sin semillas en condiciones aisladas. Resistente a Alternaria.

B69 (Ellendale x Satsuma). Buen sabor y calidad de piel. Material interesante para probar en Mercado Asiático (segmento ‘Shiranui’).

Próximas liberaciones: Perspectivas.

El programa de liberación de híbridos triploides ya está en marcha, esperando poder evaluar en campo 3 nuevas selecciones de clementina, limón y un híbrido de Ellendale x Page. Mediante el uso de parentales tetraploides ya comenzamos los trabajos de cara al aumento de obtenciones con esta tecnología.

En cuanto al programa de irradiaciones, se obtuvieron variedades promisorias las cuales se observan en segundos ensayos para verificar la estabilidad de las mutaciones inducidas.