



Instituto  
Nacional de  
Investigación  
Agropecuaria

URUGUAY

---

---

# Avances de Investigación en *Diaphorina Citri*

## Jornada de Divulgación

Programa de Investigación  
en Producción Cítrica  
INIA Salto Grande

15 de noviembre de 2016  
Serie de Actividades de  
Difusión N° 769



# Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

## Integración de la Junta Directiva

**Ing. Agr., MSc., PhD. Álvaro Roel - Presidente**

**D.M.T.V., PhD. José Luis Repetto - Vicepresidente**



**Ing. Agr. Diego Payssé Salgado**

**Ing. Agr. Jorge Peñaricano**



**Ing. Agr. Pablo Gorriti**

**Ing. Agr. Alberto Bozzo**



---

## AVANCES DE INVESTIGACIÓN EN *Diaphorina Citri*.

### TABLA DE CONTENIDO

<i>Identificación y análisis faunístico de enemigos naturales asociados a d.citri (hemiptera: liviidae)</i> .....	3
Comportamiento predador de linífidios (araneae), sobre adultos de <i>diaphorina citri</i>	10
Predación de <i>diaphorina citri</i> por arañas presentes en citricos .....	14
Uso de hongos entomopatógenos para el control de <i>diaphorina citri</i> .....	15
Manejo integrado de <i>diaphorina citri</i> con énfasis en control biológico .....	22



## IDENTIFICACIÓN Y ANÁLISIS FAUNÍSTICO DE ENEMIGOS NATURALES ASOCIADOS A *D.CITRI* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Pechi, Evelin. <sup>1</sup>, Aguirre, Alcides<sup>2</sup>, Cáceres, Sara<sup>2</sup>, Asplanato, Gabriela <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Entomología, Facultad de Agronomía, UdelaR

<sup>2</sup> INTA Bella Vista, Argentina

### Introducción

*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). La enfermedad no ha sido detectada hasta el momento en Uruguay, pero su presencia en la región pone a nuestra citricultura en una situación de alto riesgo. En el manejo de la enfermedad el control del psílido es uno de los pilares más importantes. El agroecosistema citrícola es muy rico e incluye una serie de enemigos naturales que regulan las poblaciones de la mayoría de los herbívoros que viven en los cítricos de tal manera que no es necesario utilizar medidas de control adicionales.

En cualquier programa de manejo integrado de plagas en el cultivo es fundamental considerar la acción de esos enemigos naturales minimizando el uso de insecticidas y de esta forma también limitar la presencia de residuos en fruta y en el ambiente en general. Se han citado varias especies de predadores, parasitoides y entomopatógenos como enemigos naturales de *D. citri* (Grafton-Cardwell et al. 2013; Arredondo y Rodríguez, 2015) y que pueden colaborar en la supresión de las poblaciones del psílido.

Consideramos que el control biológico es un pilar esencial en el desarrollo del manejo integrado de la plaga y para ello es necesaria la generación de conocimientos sobre la fauna benéfica asociada al psílido en las condiciones del Uruguay. El objetivo del presente trabajo es identificar las especies de predadores asociadas a *D. citri* en montes comerciales y efectuar un análisis faunístico de las mismas de forma de realizar una primera evaluación de las mismas.

### Materiales y métodos

Para la identificación de especies se seleccionaron seis predios de la zona norte del país que presentaban cuadros con presencia del psílido, dos ubicados en las localidades de Queguay y Cerro Chato (departamento de Paysandú) y cuatro en Salto Grande, San Antonio, Daymán e Itapebí (departamento de Salto).

En las quintas de Queguay e Itapebí se realizaron colectas mensuales desde 2014 al 2016. En Queguay se trabajó en dos cuadros, uno de naranja 'Navel' y otro de mandarina 'Nova', éste último se sustituyó por otro de naranja 'Salustiana' al no detectarse al psílido durante el primer año de estudio. En el predio de Itapebí se trabajó en cuadros de naranja 'Lanelate' y de tangor 'Ortanique', el cual fue sustituido por uno de naranja 'Navel'.

En la quinta de Cerro Chato se realizaron colectas una vez por estación desde la primavera 2014 en cuadros de tangor 'Ortanique' y limón. En Salto Grande, San Antonio y Daymán, se realizaron dos colectas en cuadros de naranja 'Navel', naranja 'Lanelate' y naranja 'Valencia' respectivamente.

En cada cuadro se realizaron colectas en 20 árboles, se seleccionaron al azar cuatro ramas de cada árbol distribuidas alrededor de la copa. Las colectas se efectuaron por tres métodos: 1) golpeo de ramas, en cada rama se golpeó tres veces colocando una plancha

de color blanco por debajo 2) inspección realizada durante un minuto en cada rama 3) aspiración mediante aspiradora manual.

Los insectos predadores coccinélidos, crisópidos y arañas encontrados por cada método se colectaron por medio de un aspirador manual y se almacenaron en tubos de ensayos con tapa rosca en alcohol 70°. En laboratorio se identificaron todos los especímenes de coccinélidos y crisópidos hallados con la utilización de claves (González, 2006; Freitas y Penny, 2001) y la comparación con material de referencia. Las especies crisópidos identificadas fueron confirmadas por Carmen Reguilón especialista del Instituto Miguel Lillo, Tucumán-Argentina. Algunas de las especies de coccinélidos serán enviados a taxónomos en el exterior.

Para realizar el análisis faunístico se tomaron los datos obtenidos de las colectas mensuales realizados en los cuadros de los predios de Itapebí y Queguay. Se estimaron los índices de dominancia, frecuencia, constancia y abundancia (Silveira Neto et al., 1976) Abundancia y dominancia fueron calculados mediante el programa ANAFAU (Moraes y Silvera Neto, 2003).

Indices:

La abundancia se estimó comparando el número de individuos al límite inferior del intervalo de confianza determinado. Se considera especie rara cuando el número de individuos es inferior al IC a 1%, dispersa cuando el número de individuos se encontró entre IC al 1- 5%. Número de individuos entre el límite superior e inferior del IC al 5% se trata de una especie común y muy abundante cuando este supera el límite superior al IC a 1%.

Dominancia= número máximo de la especie más abundante/número total de individuos de la comunidad.

La especie es dominante cuando los valores de frecuencia son superiores al límite calculado por la ecuación planteada por Silva, citado por Alberti et al.(2009)

$LD=1/S*100$ . S es el número total de especies.

Frecuencia = (número de individuos de la especie/total individuos colectados)\*100.

Especies que representan más del 50% se consideran especies muy frecuentes, entre 25-50% frecuentes y menos del 25 % poco frecuente.

Constancia= (Nº de colectas que se encontró las especie\*100)/número de colectas totales.

Las especies que presentan un índice superior al 50% se consideran constantes, entre 25-50% accesorias y menos del 25% accidentales.

Diversidad de Shannon (H'):  $-\sum p*\log p_i$

$p_i = n_i/N$  (abundancia relativa de la especie i en la muestra)

$n_i =$  no de individuos de la especie i

$N =$  no de individuos totales de la muestra

## Resultados

De los especímenes colectados el 44% fueron arañas, los crisópidos 30% y los coccinélidos el 24% (Figura 1).

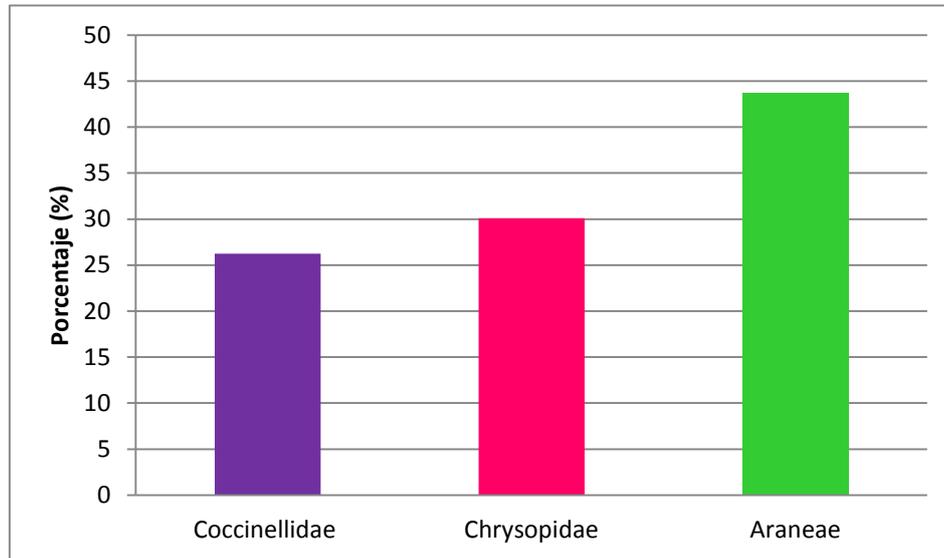


Figura 1. Proporción de cada grupo de predadores colectados durante el periodo de estudio (2014-2016)

Las especies colectadas hasta la fecha (Tabla 1) son los coccinélidos *Harmonia axyridis*, *Cycloneda sanguinea*, *Curinus coeruleus*, *Scymnus demerarensis*, *Rodolia cardinalis*, *Cryptolaemus mountrouzieri*, *Chilocorus bipustulatus* y otras especies *Coccinellidae spp* aún no identificadas. También se colectaron los crisópidos *Chrysoperla externa*, *Ceraeochrysa cincta* y una especie del género *Leucochrysa*. *Cr. mountrouzieri*, *S. demerarensis* y *Lucochrysa sp.* no habían sido citadas anteriormente en Uruguay. La mayoría de las especies encontradas están reportadas en el mundo como alimentándose sobre el psílido.

Tabla 1. Especies de coccinélidos y crisópidos identificadas

	Citadas anteriormente en Uruguay	Citadas alimentándose sobre <i>D. citri</i>
<b>Coleoptera - Coccinellidae</b>		
<i>Chilocorus bipustulatus</i>	●	
<i>Curinus coeruleus</i>	●	●
<i>Cryptolaemus mountrouzieri</i>		
<i>Cycloneda sanguinea</i>	●	●
<i>Harmonia axyridis</i>	●	●
<i>Scymnus demerarensis</i>		
<b>Neuroptera - Chrysopidae</b>		
<i>Ceraeochrysa cincta</i>	●	●
<i>Chrysoperla externa</i>	●	●
<i>Leucochrysa sp.</i>		●

Las especies encontradas más comúnmente (Figura 2) son *Ch. externa*, *C. cincta*, *H. axyridis* y *C. sanguinea*. Se han colectado escasos especímenes del resto con excepción de los Coccinellidae spp. los cuales todavía no se han identificado y no se presentan en la figura.

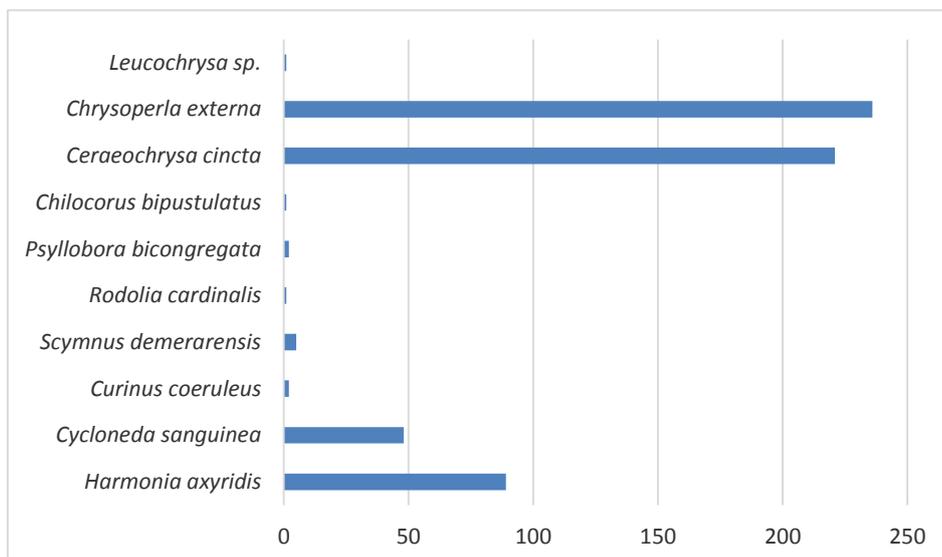


Figura 2. Número de especímenes de cada especie de las familias Chrysopidae y Coccinellidae identificados.

Los índices estimados en el análisis faunístico (Tabla 2) se calcularon para cada especie identificada con excepción de las que se colectaron solo uno o dos especímenes. *C. cincta* se presentó como común a muy abundante, dominante, constante, frecuente a muy frecuente. *Ch. externa* también varió de común a muy abundante, en general fue una especie dominante y solamente no se encontró en el cuadro de Nova. Se presentó como una especie accesoria a constante y frecuente a muy frecuente.

En lo que se refiere a la familia Coccinellidae, no se colectaron en el cuadro de naranja Salustiana. En los otros sitios *H. axyridis* fue una especie común a muy abundante, accidental a accesoria, frecuente y dominante en alguno. *C. sanguinea* mostró una variación grande en el índice de abundancia presentándose como una especie rara a muy abundante.

Los cuadros de las diferentes variedades del predio de Itapebí fueron los que presentaron los índices de diversidad mayores.

Tabla 2. Análisis faunístico

	ITAPEBI				QUEGUAY			
	Lanelate		Nova		Lanelate		Nova	
	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia
<i>C. coeruleus</i>	nd	d	z	p	nd	d	z	p
<i>C. sanguinea</i>	s	c	y	f	nd	ma	z	w
<i>H. axyridis</i>	s	c	y	f	nd	ma	z	p
<i>P. bicongreata</i>	nd	d	z	p	...	...	...	...
<i>S. demeregensis</i>	nd	d	z	p	...	...	...	...
<i>C. cincta</i>	s	c	w	f	d	ma	w	mf
<i>Ch. externa</i>	s	ma	w	mf	...	...	...	...
H'	1,6				0,91			
Nº de colectas	25				11			
	Ortanique				Salustiana			
	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia
	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia
<i>C. oeruleus</i>	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>C. sanguinea</i>	nd	r	z	p	...	...	...	...
<i>H. axyridis</i>	s	c	y	f	...	...	...	...
<i>P. bicongreata</i>	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>S. demeregensis</i>	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>C. cincta</i>	s	c	w	f	d	ma	f	w
<i>Ch. externa</i>	s	a	w	mf	d	ma	f	y
H'	1,48				0,72			
Nº de colectas	13				10			
	Navel				Navel			
	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia
	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia	Dominancia	Abundancia	Constancia	Frecuencia
<i>C. coeruleus</i>	...	...	...	...	...	...	...	...
<i>C. sanguinea</i>	s	c	y	f	nd	r	z	pf
<i>H. axyridis</i>	nd	c	z	f	s	c	y	f
<i>P. bicongreata</i>	nd	r	z	p	...	...	...	...
<i>S. demeregensis</i>	nd	c	z	f	nd	r	z	p
<i>C. cincta</i>	s	ma	y	mf	d	ma	w	mf
<i>Ch. externa</i>	s	ma	y	mf	nd	c	y	f
H'	1,63				1,37			
Nº de colectas	13				24			

A = abundante; c = común; d = dispersa; ma= muy abundante; r = rara

C = Constancia: w = constante; y = accesoria; z = accidental

D = Dominancia: s = dominante; nd = no dominante

F =Frecuencia: f=frecuente; mf = muy frecuente; p = poco frecuente

H'=diversidad de Shannon

Las dos especies de crisópidos identificadas se encontraron en los dos cuadros a lo largo de todo año, inclusive el invierno, aunque con una diferencia notoria en la abundancia. El patrón de abundancia mostró una tendencia a un crecimiento de las poblaciones durante los meses de verano y otoño (Figura 3).

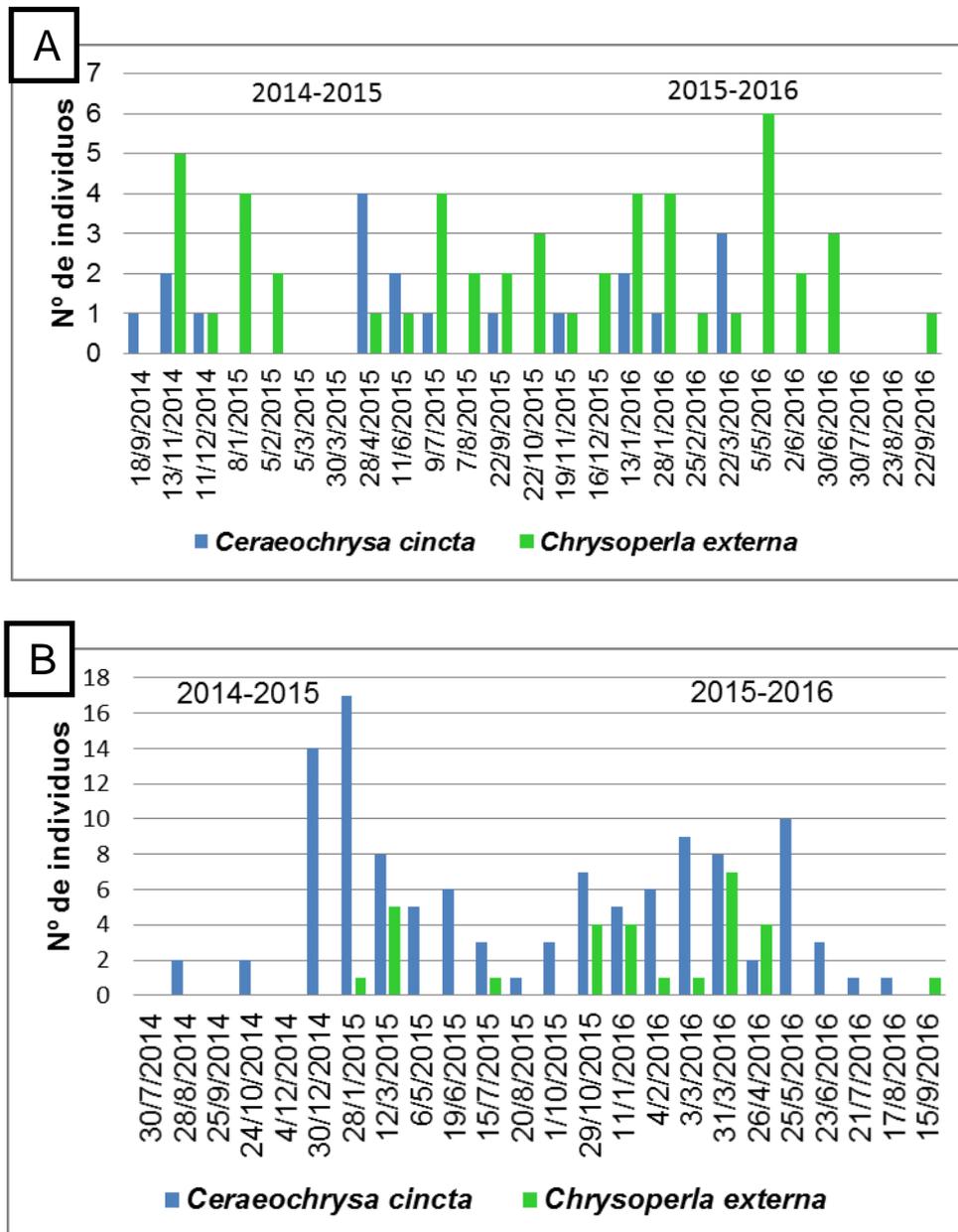


Figura 3. Colectas de *C. cincta* y *Ch. externa* durante dos temporadas (2014-2015 y 2015-2016) en un cuadro de Lanelate en la localidad de Itapebí (A) y otro de Navel en Queguay (B).

En base a los resultados obtenidos hasta el momento consideramos a los crisópidos como potencialmente importante para el control del psílido. Se han seleccionado las especies *Ceraeochrysa cincta* y *Chrysoperla externa* para estudiar su eficiencia predatora en laboratorio de forma de evaluar su potencialidad para implementar tácticas de control biológico aplicado.

---

## Bibliografía

Alberti, S.; Mello, F.; Bogus, G. 2009. Moscas-das-frutas em pomares de pessegueiro e maracujazeiro, no Município de Iraceminha, Santa Catarina, Brasil. *Ciencia Rural*, Santa María. 39 (5): 1565-1568.

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

Freitas, S. y Penny, N. 2001. The Green Lacewing (Neuroptera: Chrysopidae) of Brazilian Agro-ecosystems. *California Academy of Sciences*. 52 (19): 245-395.

González, G. 2006. Los Coccinellidae de Chile (online). Disponible en World Wide Web: <http://www.coccinellidae.cl>.

Grafton-Cardwell, E.; Stelinski, L.; Stansly, P. 2013. Biology Citrus Psyllid, Vector of the Huanglongbing Pathogens. *Annual Review of Entomology* 58: 413-432.

Moraes, R. C. B.; Silveira Neto, S. *Análise Faunístico de Insetos (Anafau)*. 2003.

Sánchez, J.; Mellín, M.; Arredondo, H.; Vizcarra, N.; González, A.; Montesinos, R. 2015. Pag. 339-372. In Arredondo, H; Rodríguez, L, editores. *Casos de Control biológico en México*. Vol 2. Biblioteca Básica de Agricultura. Guadalajara.

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

## COMPORTAMIENTO PREDADOR DE LINÍFIDOS (ARANEAE), SOBRE ADULTOS DE *DIAPHORINA CITRI*

Santana, Martín (1,2,3); Lacava, Mariángeles. (2,3); Asplanato, Gabriela (1); Viera, Carmen (2,3);  
 (1) Facultad de Agronomía, UdelaR; [martinsantana1991@gmail.com](mailto:martinsantana1991@gmail.com)  
 (2) Facultad de Ciencias, UdelaR;  
 (3) Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable

### Introducción

La utilización de predadores nativos es una herramienta útil para un manejo integrado de plagas. El uso de especies introducidas para control biológico genera desequilibrios a nivel ecosistémico (Vitousek et al. 1997), por eso el uso de especies nativas representa una solución prometedora y sustentable con el ambiente. Esta técnica es conocida como control biológico natural y las poblaciones de las especies controladoras se ven favorecidas por la generación de ambientes propicios para su establecimiento, condición que se da principalmente mediante la conservación de ambientes nativos no fragmentados (Altieri & Nicholls, 2004).

Las arañas son predadores generalistas. Esta condición favorece su uso como biocontroladores, ya que cuando las densidades de insectos plaga decrecen, las poblaciones de arañas no se ven tan afectadas, al poder consumir otro tipo de presa. Asimismo, en altas densidades de insectos plagas, las arañas se inclinan por el consumo de los mismos. Otra característica de gran importancia, es que las arañas son predadoras obligatorias del tipo “superflous killers”, es decir, matan más insectos de los que consumen (Persons, 1999; Riechert & Lockley, 1984). La fauna araneológica está ampliamente distribuida y es abundancia en diversos cultivos (Nyffeler, 1987). Múltiples estudios sugieren que son sumamente adaptables a los diferentes cultivos y su diversidad en los mismos va en aumento (Sunderland, 2000). Por ello, su estudio como potenciales controladores biológicos está cada vez más difundido en países desarrollados.

Dentro de las arañas de tela más abundantes en los cultivos se encuentran las arañas de la familia Linyphiidae (Araneae). Pertenecen al gremio de tejedoras de telas sabaniformes (Cardoso et al. 2012). Este grupo de arañas es de reducido tamaño (2 mm) y por ende las telas que construyen son pequeñas, pero con alta densidad de seda, ya que las presas que consumen son pequeñas y con la malla reticulada densa permite la retención de un gran número de presas, evitando que atraviesen la malla tupida. Estudios previos también muestran que en altas densidades los individuos muestran una gran tolerancia entre ellos (Harwood, 2005), un aspecto de gran importancia si se prevé su uso como biocontroladores. En cultivos uruguayos de cítricos se estudió la diversidad y abundancia de arañas tanto en cultivos convencionales como en abandono (Benamú, 2004) siendo los linífidos se encuentran dentro de las familias con mayor abundancia y distribución.

El conjunto de estas características junto con la eficacia del comportamiento predador convierten a estas arañas en agentes útiles para controlar poblaciones de *Diaphorina citri* en estado adulto, ya que las larvas son inmóviles y no caen en las redes. En el presente trabajo se evaluó el comportamiento predador de la especie *Meioneta sp.* sobre adultos del psílido problema en cítricos. Para ello se utiliza el análisis de las variables: tasas de aceptación, tiempos de manipulación y la descripción de unidades comportamentales para evaluar la importancia de esta especie en el manejo integrado de adultos de *D. citri*.

## Materiales y métodos

Las arañas fueron colectadas en cultivos experimentales de cítricos en la estación INIA de Salto Grande, mediante la técnica de colecta manual. Los individuos fueron trasladados al laboratorio de Ecología del Comportamiento del Instituto de Investigaciones Biológicas Celestino Estable. En el laboratorio fueron mantenidos en cajas de Petri de 5 cm de diámetro, con un algodón embebido en agua y una hoja de naranjo dulce para proveer refugio y una estructura donde poder fijar su tela.

Se utilizaron adultos de *D. citri* como presa, los cuales fueron criados en la estación INIA Salto Grande, y enviados un día previo a las experiencias a Montevideo.

Los linífidos fueron alimentados *ad libitum* con *Drosophila spp.* el primer día y fueron mantenidos 1 semana en ayuno *a posteriori* para estandarizar los niveles de hambre. Posteriormente a la semana de ayuno, se les ofreció adultos de *D. citri* a 19 arañas. Las observaciones finalizaron una vez que la presa fue sometida, o transcurridos 20 min sin respuesta predatora.

Las experiencias eran registradas con cámara de video (Sony DCR-SR68), los datos fueron analizados sobre tiempos de manipulación, se listaron las unidades comportamentales siguiendo las descripciones de Rojas, Otatti y Viera (2014) y se calculó la tasa de aceptación mediante la fórmula:  $(A/Nt) \cdot 100$ . Donde A= Al número de presas aceptadas por especie de presa y Nt= Número total de presas ofrecidas por especie de presa (Viera, 1994).

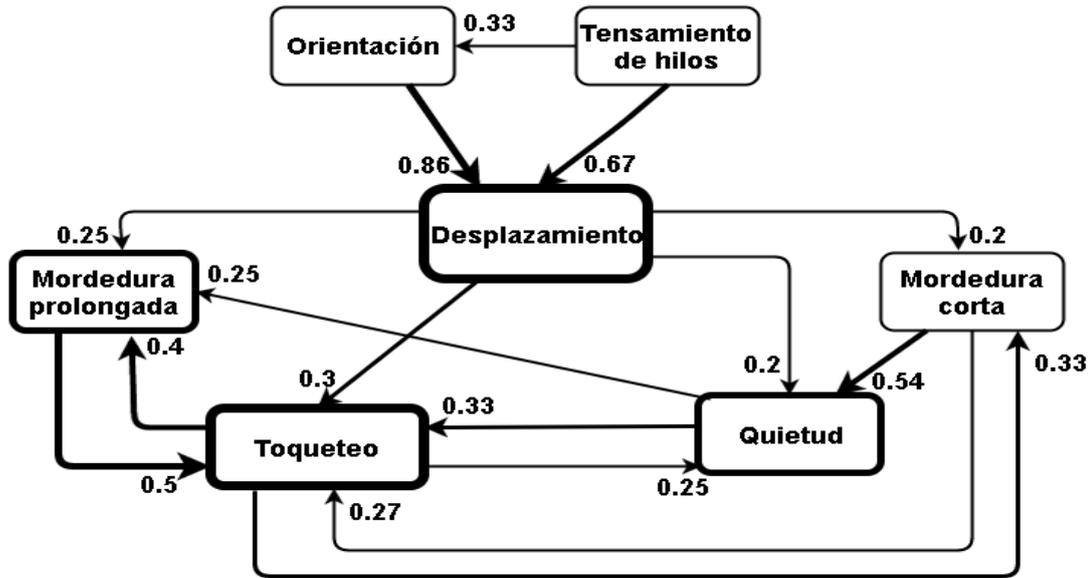
## Resultados

La tasa de aceptación de *D. citri* fue alta, con tiempos de inmovilización bajos y tiempos de latencia muy variables (Tabla 1). El número de unidades comportamentales registrado fue bajo. Cabe destacar que en 2 de las 5 experiencias (en 19) en las que no hubo consumo, las presas murieron después de haber quedado atrapadas en la tela.

Tabla 1: Variables tomadas durante las capturas sobre *Diaphorina citri*.

Tasa de aceptación (%)	Tiempo de inmovilización (s)	Tiempo de latencia (s)	Número total de unidades
73.6	34.8 ± 44.7	101 ± 208.7	6.6 ± 2.56

Las unidades comportamentales se agruparon operacionalmente en dos grupos: **Fase de detección de la presa** y **Fase de inmovilización** (no se observó el consumo de la presa porque a los efectos del objetivo del trabajo bastaba con que la presa muriera). La fase de detección constó de las unidades Orientación y Tensamiento de hilos, mientras que el resto de las unidades componen la fase de inmovilización (Figura 1). En un solo individuo se observó un comportamiento de huida y retorno a la captura de forma repetida.



**Figura 1:** Secuencia de unidades involucradas en la captura de *Diaphorina citri*, Orientación y Tensamiento de hilos conforman la fase de detección, mientras que las restantes constituyen la fase de inmovilización.

## Discusión y Conclusiones

Las unidades de comportamiento registradas fueron menores a las observadas en otras capturas (Viera, 1994). Esto podría deberse a que *D. citri* no presenta un comportamiento antipredador importante una vez atrapada en la tela, permitiendo que las arañas la sometieran fácilmente. No es un dato menor, el hecho que cuando los psílidos caen en la tela, aunque no sean consumidos, la gran mayoría de los individuos muere atrapado en la red. Dado que la tasa de aceptación es alta y que la captura no es dificultosa y mueren más presas de las consumidas, los linífidos podrían resultar buenos controladores de adultos de *D. citri*. Realizar estudios sobre la respuesta funcional de linífidos sobre *D. citri*, resulta fundamental para determinar a qué densidades poblacionales estas arañas podrían mantener las poblaciones controladas y si es necesario contar con manejos complementarios.

---

## Bibliografía

Altieri, MA. & Nicholls, CI. (2004). Biodiversity and pest management in agroecosystems. Haworth Press, New York.

Benamú, M. (2004): Estudio comparativo de la diversidad de arañas de un campo en abandono y un cultivo convencional de limonero (*Citrus limon* [L.] Burm.) en Rincón del Cerro, Montevideo, Uruguay. Tesis de Maestría en Biología, Opción Zoología, Programa de Desarrollo en las Ciencias Básicas PEDECIBA, Facultad de Ciencias, Universidad de la República (Montevideo – Uruguay). pp.: 136.

Cardoso, P., Pekár, S., Jocqué, R., & Coddington, J.A. (2011). Global Patterns of Guild Composition and Functional Diversity of Spiders. *PLoS ONE* 6(6): e21710. doi:10.1371/journal.pone.0021710.

Harwood, J.D. & Obrycki, J.J. (2005) Web-Construction Behavior of Linyphiid Spiders (Araneae, Linyphiidae): Competition and Co-Existence Within a Generalist Predator Guild. *Journal of Insect Behavior*. 18: 593. doi:10.1007/s10905-005-7013-8

Nyffeler, M. and Benz, G. (1987). Spiders in natural pest control: A review. *Journal of Applied Entomology*, 103: 321–339. doi:10.1111/j.1439-0418.1987.tb00992.x

Persons, MH. (1999). Hunger effects on foraging responses to perceptual cues in immature and adult wolf spiders (Lycosidae). *Animal Behavior*, 57: 81–88.

Riechert, SE. & Lockley, T. (1984) Spiders as biological control agents. *Annual Review of Entomology*, 29: 299–320.

Rojas, C., Viera, C., Ottati, M. (2014) Potencial predador de arañas tejedoras sobre insectos plaga presentes en un cultivo de soja. *Memorias del V Congreso Latinoamericano de Agroecología*. A1-19.

Sunderland, K. and Samu, F. (2000). Effects of agricultural diversification on the abundance, distribution, and pest control potential of spiders: a review. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 95: 1–13. doi:10.1046/j.1570-7458.2000.00635.x

Viera, C. (1994). Analisis del comportamiento depredador de *Metepeira seditiosa* (Keyserling) (Araneae, Araneidae) en condiciones experimentales. *Aracnologia (supl .)*, 8: 1-9.

Vitousek, Peter M. et al. (1997) "Introduced species: a significant component of human-caused global change." *New Zealand Journal of Ecology*, vol. 21, no. 1, pp. 1–16.

## PREDACIÓN DE *DIAPHORINA CITRI* POR ARAÑAS PRESENTES EN CITRICOS

Lacava, Mariángeles<sup>2</sup>; Santana, Martín<sup>3</sup>; Viera, Carmen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias, Departamento de Entomología, Montevideo, Uruguay

<sup>2</sup> IIBCE, Laboratorio de Ecología del Comportamiento, Montevideo, Uruguay.

<sup>3</sup> Facultad de Agronomía, Montevideo Uruguay.

[mlacava@iibce.edu.uy](mailto:mlacava@iibce.edu.uy)

*Diaphorina citri* es un psílido vector de la enfermedad del HLB. Este vector se desarrolla en los brotes durante sus estadios de ninfa y cuando adulto se lo puede encontrar además en las hojas de las plantas. Aunque en Uruguay no se ha registrado la enfermedad del HLB si se encuentra *D. citri*. por lo tanto la búsqueda de estrategias que permitan el control del vector resultan de gran interés para el país. Las arañas son uno de los grupos de predadores más abundante en agro cultivos. En el caso de los cítricos, las representan más del 50% del total de depredadores presentes. La gran diversidad de grupo hace que puedan encontrarse en diferentes estratos de la planta que van desde el suelo hasta la copa de los árboles. Muchos estudios han evaluado la diversidad de las arañas presentes en los montes de cítricos de diferentes partes del mundo. Estos coinciden en que las familias Oxyopidae, Anyphaenidae, Clubionidae y Salticidae y Saporassidae están presentes en los cítricos y podrían consumir presas que se encuentren en las hojas y brotes de los mismos. Lo anterior las convierte en candidatos adecuados para ser empleados en programas de manejo integrado de plagas (MIP). Con el fin de evaluar este potencial controlador de las arañas sobre *D. citri*, en el presente trabajo evaluamos la tasa de consumo y los tiempos de inmovilización de arañas de la familias Oxyopidae, Anyphaenidae, Clubionidae y Salticidae y Saporassidae frente a ninfas de estadio 4 y 5 de *D. citri*. Una semana antes de la experiencia a las arañas de les ofrecieron presas de *Drosophila melanogaster* hasta saciarlas para lograr estandarizar el hambre. A la semana se les ofreció ninfas de estadio 4 o 5 de *D. citri*, se registró la captura de la presa y cuánto tiempo le tomaba a la araña inmovilizar a la misma. En la araña de la familia Oxyopidae se registró una aceptación de *D. citri* del 100%, mientras que en las demás familias fueron un 72% en Anyphaenidae, 30% en Salticidae, 40% en Sparassidae y 55% en Clubionidae. Estas observaciones sugieren que las arañas de estas familias pueden ser controladores potenciales de *D. citri* y podrían capturar grandes cantidades del psílido debido a los cortos tiempos de inmovilización registrados, sin embargo más estudios como la evaluación de la respuesta funcional deberían realizarse sobre este grupo de predadores.

## USO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA EL CONTROL DE *DIAPHORINA CITRI*

Corallo Belén<sup>1</sup>, Bettucci Lina<sup>1</sup> y Tiscornia Susana<sup>1</sup>

1: Facultad de Ciencias – Facultad de Ingeniería, Universidad de la República

### Introducción

Los hongos entomopatógenos, en su mayoría pertenecientes a Entomophthoromycota y Ascomycota, conforman un grupo muy importante en el control biológico de insectos. En China, hace 2000 años se conocieron como causantes de enfermedades del gusano de seda y en 1836, Agostino Bassi identificó al agente causal como *Beauveria bassiana*. A partir de ahí comienzan a estudiarse estos hongos para su uso en el control de insectos. Las dos especies más frecuentemente utilizadas a nivel mundial son *Metarhizium anisopliae* y *Beauveria bassiana*. Debido a su eficiencia y facilidad de producción, se han desarrollado numerosos micoinsecticidas formulados con estos hongos.

*Diaphorina citri* es un insecto vector que transmite eficientemente la bacteria *Candidatus Liberibacter* que causa la enfermedad de los cítricos conocida como Huanglongbing (HLB), esta enfermedad es considerada la más destructiva a nivel de los cítricos. En nuestro país se ha reportado la presencia del vector en 1991, pero el HLB no se ha encontrado hasta el momento.

Dentro de las especies fúngicas patógenas frente a *D. citri* se encuentran, *Isaria fumosorosea*, *Beauveria bassiana*, *Hirsutella citriformis*, *Lecanicillium lecanii*, *L. muscarium*, *L. longisporum*, *Metarhizium anisopliae* y *M. brunneum* (Conceschi et al., 2016). En Argentina se ha encontrado *B. bassiana* infectando naturalmente ninfas y adultos de *D. citri* (Cáceres et al 2010) y en Brasil un aislamiento de la misma especie de hongo y uno de *I. fumosorosea* son señalados como promisorios controladores del insecto por provocar alta mortalidad de ninfas (Saldarriaga, 2014).

Los hongos entomopatógenos pueden ser el principal factor de mortalidad de *D. citri* si las condiciones ambientales son favorables para su desarrollo.

### Objetivos

Seleccionar cepas de hongos entomopatógenos que sean eficientes para controlar a *Diaphorina citri* y puedan producirse y formularse para ser aplicados en las plantaciones de cítricos.

Actividades

### 1-Evaluación de la eficiencia de cepas de hongos entomopatógenos para infectar *D. citri*

- **Selección de cepas de hongos entomopatógenos**

Se seleccionaron tres cepas de hongos pertenecientes a la colección del Laboratorio de Micología. Dos cepas corresponden a *Beauveria bassiana* y una a *Metarhizium anisopliae*. Estos hongos se seleccionaron tomando en cuenta trabajos previos realizados en el laboratorio y campo donde mostraron ser eficientes para infectar y matar insectos tales como hormigas cortadoras, *Gonipterus* sp. y *Phoracantha recurva*.

- **Pulverización de plantines de cítricos infestados con *Diaphorina citri***

La aplicación de los hongos se realizó en plantines de cítricos infectados con ninfas de *Diaphorina citri* provenientes de la estación de cría de INIA Salto.

Para cada cepa de hongo seleccionada se pulverizaron 6 macetas con 30 mL de una suspensión de  $1 \times 10^7$  esporas viables/mL de agua Tween. El control se realizó aplicando agua Tween. Cada una de las macetas se cubrió con una malla para impedir el traslado de los insectos de una a otra. Las macetas se colocaron en una cámara cerrada, a 25°C durante 5 días. Luego se cortaron los brotes de todas las plantas que contenían *D. citri* con los diferentes tratamientos. Se colocaron en bolsas selladas herméticamente y se transportaron al laboratorio para realizar la evaluación de la infección fúngica bajo lupa estereoscópica.



Plantines inoculados con hongos entomopatógenos.



Brotos cortados y cámaras húmedas

- **Evaluación de la infección**

Se contaron bajo lupa los individuos vivos y muertos de todos los brotes de cada tratamiento y se observó la presencia de micelio emergiendo de los insectos muertos. Los individuos muertos sin micelio, se transfirieron a cámara húmeda para determinar la infección fúngica.



Brotos con insectos muertos y micelio emergiendo de ellos



Insectos muertos colocados en Cámara húmeda

- **Tratamiento de datos**

Se calculó el porcentaje de mortalidad de insectos producida por hongos como: número de insectos muertos con desarrollo de entomopatógenos/total de insectos tratados.

El porcentaje de mortalidad total de insectos se calculó como: número de insectos muertos/ total de insectos tratados.

Para evaluar si existían diferencias significativas en la mortalidad de insectos entre los tratamientos, se realizó la transformación de los datos como:  $\arcsen \sqrt{x}$  y se efectuó un Test de Tukey considerando  $\alpha=0,05$ .

## Resultados

El estado de infección de los plantines de cítricos con ninfas de *D. citri* fue muy heterogéneo, variando entre 8 y 156 individuos por maceta. El total de insectos evaluados en el ensayo fue de 2132.



**A:** ninfa de *D. citri* testigo, **B:** ninfa con *M. anisopliae* 2411, **C:** ninfa con *B. bassiana* 2121.

El porcentaje de mortalidad de insectos producido por una sola aplicación de los hongos entomopatógenos, evaluado a los 5 días fue alto, variando entre 83 y 86 %, respecto al 21% en los testigos.

Porcentaje de mortalidad de *D. citri* en los distintos tratamientos

Tratamiento	Mortalidad producida por entomopatógenos (%)		Mortalidad total en la población (%)	
	Promedio	Desvío	Promedio	Desvío
Testigo	-	-	20,8	8,7
<i>Metarhizium anisopliae</i> 2411	82,8	10	96,1	7,1
<i>Beauveria bassiana</i> 2067	85,9	3,8	98,7	1,7
<i>Beauveria bassiana</i> 2121	84,8	5,2	98,7	1,3

Teniendo en cuenta la mortalidad total de los insectos se observa una reducción en la población de hasta un 99%.

Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la mortalidad de los insectos entre el testigo y los tratamientos con hongos entomopatógenos. En cambio no se observaron diferencias en la mortalidad entre los tratamientos con las distintas cepas de hongos evaluadas.

## **2-Efecto de los hongos entomopatógenos sobre enemigos naturales de *D. citri***

Dado que especies de coccinélidos son depredadores naturales de *D. citri*, estos cumplen un rol controlador en la naturaleza. Por esta razón se evaluó el efecto que tienen los hongos entomopatógenos seleccionados para el control de *D. citri*, sobre las especies de coccinélidos *Cycloneda sanguinea* y *Harmonia axyridis* presentes en las plantaciones de cítricos en nuestro país.

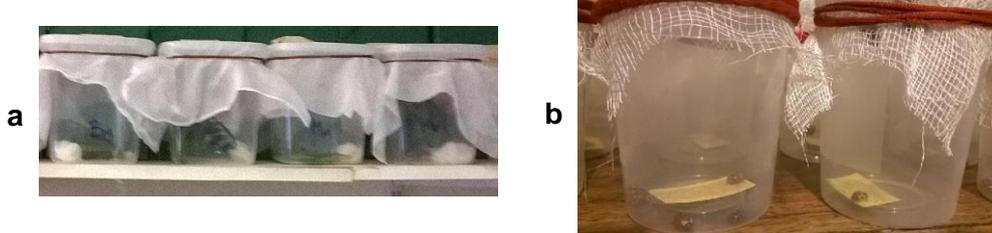
Se colectaron ejemplares adultos y larvas de ambas especies de coccinélidos presentes en las plantaciones. Se transportaron al laboratorio y se colocaron en jaulas (5 individuos por jaula). Cada jaula contenía un algodón húmedo y papeles amarillos con huevos de *Ephestia kuehniella* como alimento.

### • Inoculaciones

Se realizaron 3 tratamientos:

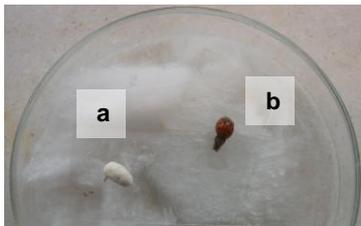
- Inoculación con *B. bassiana*. Se aplicó sobre los insectos, mediante un pulverizador, una suspensión de esporas de  $1 \times 10^7$  conidios/mL de agua-Tween (0,02%).

- b) Inoculación con *M. anisopliae*. De la misma forma que en el caso anterior se aplicó sobre los insectos una suspensión de esporas de  $1 \times 10^7$  conidios/mL de agua-Tween (0,02%).
- c) Testigos. Se aplicó solamente agua-Tween (0,02%) sobre los insectos.



**a:** jaulas conteniendo larvas de *H. axyridis* y de *C. sanguinea* con los distintos tratamientos, **b:** jaulas conteniendo adultos de *H. axyridis* con los distintos tratamientos

Las jaulas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 7 días y se contabilizaron diariamente los individuos muertos. Estos se colocaron en cámara húmeda durante 15 días para observar el desarrollo de micelio. En el caso de presentar desarrollo fúngico, se realizó la observación microscópica para confirmar la presencia de *Beauveria* o *Metarhizium*.



Cámara húmeda con *H. axyridis* infectada con *B. bassiana* (a) y sin desarrollo fúngico (b)

#### • Inoculación de coccinélidos muertos

Además de evaluar la capacidad patogénica de los hongos sobre coccinélidos, se estudió la capacidad de *Beauveria* y *Metarhizium* para colonizar y crecer sobre insectos muertos usándolos como sustrato.

Para ello, se les aplicó una suspensión de esporas con  $1 \times 10^7$  conidios/mL de *B. bassiana* o *M. anisopliae* y agua-Tween (0,02%). Se colocaron los insectos en cámara húmeda hasta observar el desarrollo de micelio. Luego se reaislaron los hongos entomopatógenos inoculados.

## Resultados

Efecto de los hongos entomopatógenos sobre coccinélidos

Tratamiento	Vivos (%)	Muertos (%)	Muertos por hongos(%)
Testigo	79	21	0
<i>Beauveria bassiana</i>	80	20	2
<i>Metarhizium anisopliae</i>	84	16	7

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 coccinélidos al ser inoculadas con *B. bassiana* y con *M. anisopliae*. Incluso completaban su ciclo llegando al estado adulto.

Inoculación sobre individuos muertos

Tratamiento	Colonización (%)	
	<i>Cycloneda sanguinea</i>	<i>Harmonia axyridis</i>
<i>Beauveria bassiana</i>	69	56
<i>Metarhizium anisopliae</i>	69	89

Tanto *Beauveria* como *Metarhizium* fueron capaces de colonizar y crecer sobre individuos muertos de *Cycloneda sanguinea* y *Harmonia axyridis*.

### **3-Efecto de los principales plaguicidas sobre los hongos seleccionados para el control de *D. citri***

Se evaluaron los productos más frecuentemente usados en plantaciones de cítricos: 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 (2) y además, una concentración un 30% mayor (3) y un 30% menor (1).

Concentración de los pesticidas utilizados

Concentración	1	2	3
Oxicloruro de cobre	105µL/300mL	150µL/300mL	195µL/300mL
Abamectina	0.52g/300mL	0.75g/300mL	0.98g/300mL
Aceite mineral	3.68mL/300mL	5.25mL/300mL	6.83mL/300mL

Cada producto se incorporó al medio de cultivo PDA donde se inocularon las esporas de los hongos.

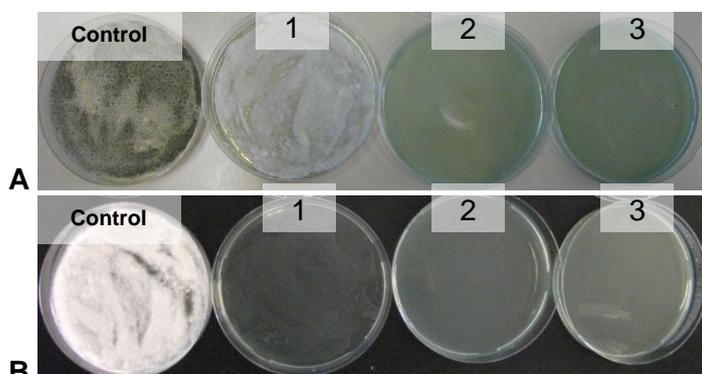
Para determinar la viabilidad de las esporas en presencia de oxiclورو de cobre y Abamectina se evaluó la germinación (conidios germinados/total de conidios x 100). La viabilidad con aceite mineral se determinó cuantificando colonias. Se realizaron 4 réplicas. También se evaluó el crecimiento del micelio y la esporulación luego de 4 días de incubación.

- **Tratamiento de datos**

Para evaluar si existían diferencias significativas en el efecto de los pesticidas se realizó el Test de Kruskal-Wallis ( $\alpha=0,05$ ).

## Resultados

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 (1) no se observaron diferencias significativas en la viabilidad (germinación) de los conidios respecto al control para ninguna de las dos cepas.



Efecto del oxiclورو de cobre sobre A: *M. anisopliae* y B: *B. bassiana*.

El oxiclورو de cobre afectó negativamente el crecimiento y la esporulación de *B. bassiana*, mientras que sobre *M. anisopliae* no tuvo un efecto negativo sobre el crecimiento del micelio, pero sí disminuyó la esporulación.

Viabilidad de las esporas según los distintos tratamientos con pesticidas

Tratamiento	Control	Cu 1	Cu 2	Cu 3	Control	Ab 1	Ab 2	Ab 3	Control	AM 1	AM 2	AM 3
<b>2411</b>	90,5	89,7	0	0	96,1	68,1	38,1	28,3	146	162	162	176
<i>M. anisopliae</i>	88,8	90,3	0	0	97	67,3	39,5	20,6	121	142	125	162
	88,5	82,2	0	0	96,6	69,1	35,6	22,4	159	144	140	117
	93,2	93,5	0	0	95,6	55,2	26,8	24,1	142	123	126	129
<b>Promedio</b>	90,3	88,9	0	0	96,3	64,9	35	23,8	142	143	138	171
<b>Desvío</b>	2,2	4,8	0	0	0,6	6,5	5,7	3,3	16	16	17	73
<b>2067</b>	98,6	98,5	0	0	100	97,9	95,5	91,1	230	224	250	230
<i>B. bassiana</i>	100	97,4	0	0	97,4	97,1	96,9	90,3	222	249	224	229
	99,1	100	0	0	99,3	97,3	98,8	90,6	239	233	239	212
	99,4	99,3	0	0	100	98	96,4	93,9	216	238	243	196
<b>Promedio</b>	99,3	98,8	0	0	99,2	97,6	96,9	91,5	227	236	239	217
<b>Desvío</b>	0,6	1,1	0	0	1,2	0,4	1,4	1,6	10	10	11	16

Cu: Oxiclورو de cobre, Ab: Abamectina y AM: Aceite mineral. 1,2 y 3: diferentes concentraciones

El tratamiento con Abamectina provocó una disminución en la germinación de esporas de *M. anisopliae*. Si bien la viabilidad de las esporas de *Beauveria* se mantuvo por encima del 90% en todos los tratamientos, la concentración más alta de Abamectina disminuyó levemente la viabilidad de las esporas.

Luego de 4 días de incubación se observó que la Abamectina no afectó ni el crecimiento ni la esporulación de *Beauveria*, pero sí afectó al crecimiento de *Metarhizium*.

En la evaluación del aceite mineral con *Metarhizium* y *Beauveria* no se observaron diferencias significativas sobre viabilidad de las esporas. Pero luego de 4 días de incubación, ambos hongos mostraron una leve disminución en el desarrollo del micelio y la esporulación.

## Conclusiones

Las tres cepas de hongos evaluadas fueron eficientes en el control de *D. citri*  
 La mortalidad de *D. citri* fue alta al 5 día de inoculados los hongos  
 El método de aplicación por aspersión fue adecuado

Las cepas de hongos entomopatógenos seleccionadas por su eficiencia para el control de *D. citri*, parecen no afectar a las especies de coccinélidos *Cycloneda sanguinea* y *Harmonia axyridis* que están presentes en las plantaciones de cítricos.

La mayoría de los productos químicos evaluados, que se usan comúnmente como pesticidas en campo, afectaron la germinación, el crecimiento micelial o la esporulación de los hongos en las dosis que son aplicados con frecuencia.

En concentraciones más bajas no afectan la germinación de los conidios pero si el crecimiento del micelio y la esporulación.

La Abamectina se podría aplicar en conjunto con *B. bassiana*.

Es importante tener en cuenta todos estos aspectos a fin de poder determinar cual es el mejor momento de aplicación de los hongos para la evaluación de los mismos como controladores de *D. citri* en condiciones de campo.

## Bibliografía

Cáceres, S.; Aguirre, A.; Miño, V.; Almonacid, R.; Almidón, L.; Lecuona, R. 2010. *Beauveria bassiana* parasita al psílido *Diaphorina citri* en citrus y mirto de Corrientes. XXI Reunión de Comunicaciones Científicas Técnicas y de Extensión, FCA, UNNE. 4-6 de agosto.

Conceschi, M. R.; D'Alessandro, C. P.; de Andrade, R.; Garcia, C.; Delalibera, I. 2016. Transmission potential of the entomopathogenic fungi *Isaria fumosorosea* and *Beauveria bassiana* from sporulated cadavers of *Diaphorina citri* and *Toxoptera citricida* to uninfected *D. citri* adults. *BioControl* 61:567–577

Saldarriaga, J. J. 2014. Desenvolvimento de estratégias para incorporacão de fungos entomopatogênicos no manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) na cultura dos citros. Tese de Doutorado em Ciências – Entomologia, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, Brazil.

## MANEJO INTEGRADO DE *DIAPHORINA CITRI* CON ÉNFASIS EN CONTROL BIOLÓGICO

Buenahora, J.<sup>1</sup>; Pereira das Neves, V.<sup>1</sup>; Galván, V.<sup>1</sup>; Amorós, M.<sup>2</sup>; Rodríguez, A.<sup>1</sup>; Amaral, J.<sup>1</sup>;

<sup>1</sup> Programa Nacional de Investigación en Producción Citrícola. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA Salto Grande. Uruguay.

Equipo externo: Asplanato, G.<sup>2</sup>; Rossini, C.<sup>3</sup>; Jorge Franco<sup>4</sup>, Philip Stansly<sup>5</sup>, Pedro Yamamoto<sup>6</sup>.

<sup>2</sup> Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Montevideo.

<sup>3</sup> Universidad de la República, Facultad de Química, Montevideo.

<sup>4</sup> Universidad de la República, Facultad de Agronomía, EEMAC, Paysandú.

<sup>5</sup> Universidad de Florida, EEUU.

<sup>6</sup> Universidad de San Pablo, ESALQ.

Contacto: [jbuenahora@inia.org.uy](mailto:jbuenahora@inia.org.uy)

### 1- Estudio de la abundancia y fluctuación de poblaciones en dos predios citrícolas de Salto y Paysandú.

#### Materiales y métodos

Para el estudio de la evolución poblacional de *Diaphorina citri* se seleccionaron 4 cuadros de cítricos en 2 predios de diferentes zonas del norte del país con presencia de la plaga: Departamento de Salto, paraje Colonia Itapebí: Lane Late y Navelina, sin riego; Departamento de Paysandú, paraje Queguay: Washington Navel y Salustiana, con riego.

Los cuadros de Lane Late y Navelina se mantuvieron sin tratamientos insecticidas a excepción de un tratamiento para cochinilla roja en el otoño de 2016 con un producto de bajo impacto. En los otros cuadros se efectuó el uso de aceite e insecticidas para el control de cochinilla roja y minador de los cítricos. Los monitoreos se realizan cada 15 días.

En cada cuadro de aproximadamente 1 há, para el seguimiento de las poblaciones de los psílidos adultos se utilizan 30 trampas amarillas con adherente y el método de golpeo de ramas (Tap). Para este método, en cada uno de los árboles donde se colocaron las trampas se toman al azar 4 ramas (una por cuadrante). En cada oportunidad se golpea la rama tres veces, colocándose debajo una plancha de color blanco de 21 cm x 30 cm. La observación y el conteo de los insectos se realizan en el campo.

La población de inmaduros (huevos y ninfas) se evalúa tomando al azar 4 brotes/árbol, de la brotación predominante en ese momento (uno de cada cuadrante). En el laboratorio, bajo lupa binocular, se cuentan todos los estados inmaduros presentes por brote.

Para estimar la intensidad de brotación, en cada una de las 30 plantas, se contabilizan todos los brotes presentes en un marco de  $\frac{1}{2}$  m<sup>2</sup> colocado en dos caras de la copa de los árboles. Los brotes se discriminaron por tipo.

Se llevan registros climáticos mediante sensores de temperatura, humedad relativa y lluvia.



Figura 1. Ubicación geográfica de las parcelas

## Resultados y discusión

A continuación se presentan los resultados preliminares de 2 años de estudio en 2 de los 4 cuadros señalados anteriormente (Navel-Queguay y Lane Late- Itapebí).

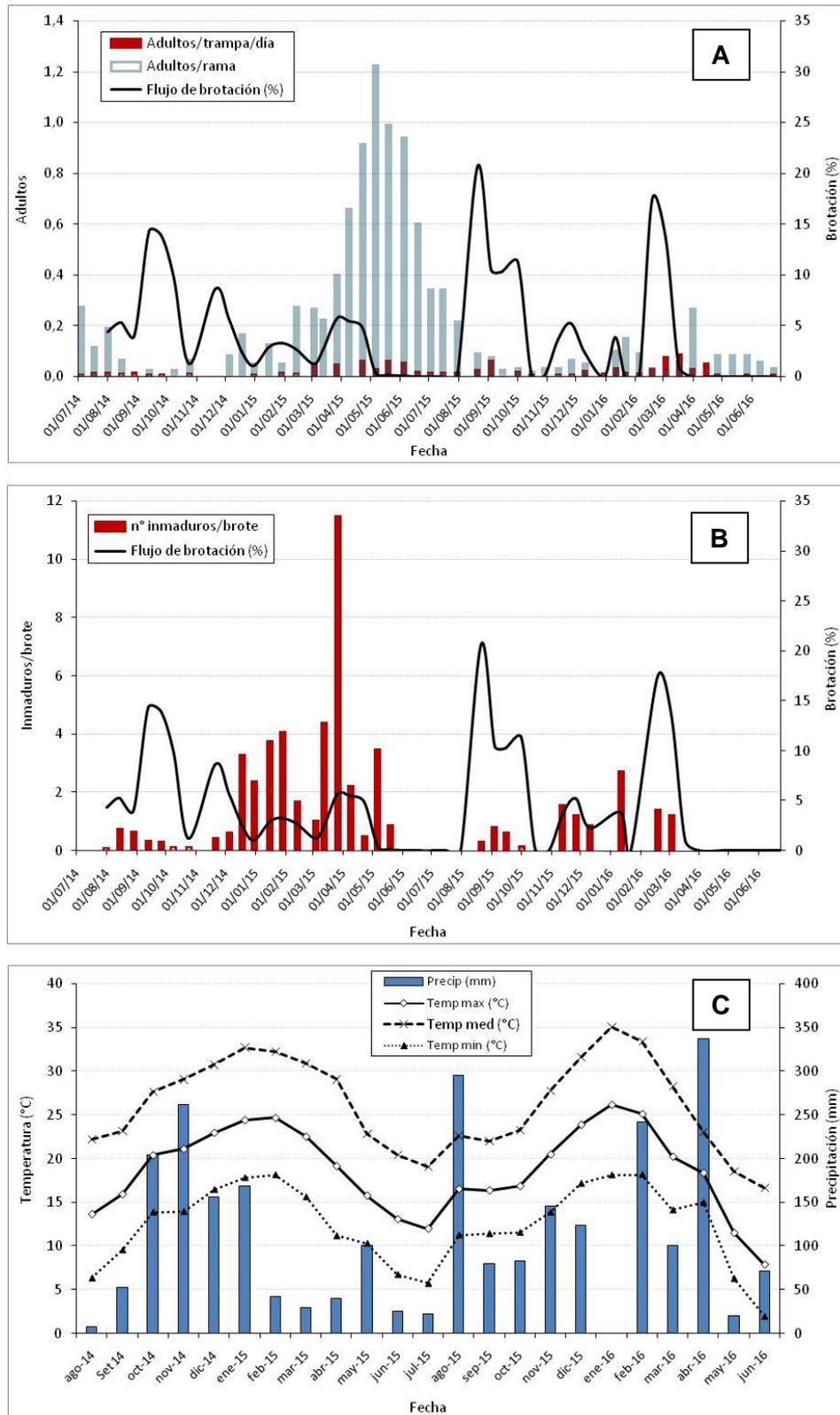
### Queguay – Navel

Los resultados de dos años de estudio en el cuadro de Navel- Queguay indican cierta tendencia que la época de mayor captura de adultos en trampas amarillas y el Tap es en otoño-invierno, aunque las poblaciones fueron bajas. La mayor captura de adultos/trampa/día en 2015 fue en Mayo-Junio registrándose 0,05 adultos/trampa/día, mientras que en 2016 la mayor captura fue en marzo con 0,08 adultos/trampa/día (Figura 2A). En estas fechas, respectivamente el 88% y 81% del total de los brotes encontrados no eran jóvenes. Esta información podría sugerir que las trampas amarillas capturan más adultos cuando la brotación está más desarrollada. Probablemente una de las razones para que este vuelo de adultos ocurra es que el insecto está buscando brotes aptos para la postura. Sin embargo cuando predominan brotes más tiernos descienden las capturas en las trampas amarillas indicando un menor desplazamiento de adultos entre las plantas pues estarían oviponiendo. Esto coincide con lo mencionado por Briansky y Rogers (2007) quienes afirman que las hojas expandidas no son sitios donde las diaphorinas adultas oviponen. Durante los períodos de baja disponibilidad de brotes jóvenes los psíidos adultos pueden quedarse en las hojas maduras de las plantas para alimentarse o migrar a nuevas áreas donde existan brotes nuevos para realizar las posturas. Este es uno de los movimientos que las trampas amarillas pueden detectar.

El monitoreo de adultos por rama (Tap), en ambos años muestra mayores capturas que las trampas amarillas. Sin embargo si bien se encontró altas poblaciones en otoño del

2015 con un pico máximo de 1,2 adultos/rama, no ocurrió lo mismo en 2016 donde el valor máximo fue de 0,26 adultos/rama. Al considerar las condiciones climáticas de la primavera 2014 - 2015 y el otoño del 2016 (Fig. 2C), vemos que se trató de períodos muy lluviosos (518, 309 y 457mm respectivamente) y con temperaturas promedio menores a 20°C. Intensas lluvias podrían haber provocado un arrastre mecánico aumentando la mortalidad de ninfas y por lo tanto la reducción de la cantidad de adultos en el cultivo (McFarlan y Hoy, 2001). También se ha reportado que precipitaciones mayores a 150mm mensuales producen arrastre de estados inmaduros de la superficie vegetal (Aubert, 1987). Por otra parte las temperaturas podrían haber afectado negativamente la actividad de los adultos ya que se ha reportado que entre 25 y 28°C es donde *Diaphorina* ve más favorecida su actividad (Liu and Tsai, 2000). En el invierno de 2015 no hay brotación y los pocos adultos se detectaron con el método del Tap.

En cuanto a los inmaduros/brote, si bien en las primaveras 2014, 2015 existió brotación, el número de inmaduros/ brote fue bajo. Quizás esto pueda explicarse por la ocurrencia de frecuentes lluvias y temperaturas no óptimas para la plaga. En el verano 2015, coincidiendo con el descenso de lluvias, en enero, se realizó una aplicación de aceite mineral al 1% afectando la población de inmaduros aunque la misma se recuperó rápidamente.



**Figura 2. A-** Adultos/trampa/día, Adultos/rama y Flujo de brotación (%); **B-** Inmaduros/brote y Flujo de brotación (%); **C-** Precipitaciones (mm), Temperatura máxima (°C), Temperatura media (°C) y Temperatura mínima (°C). **Queguay.**

Para el cuadro en estudio, en el verano-otoño 2016, se realizaron 4 aplicaciones con abamectina (12 de enero, 4 de febrero, 25 de febrero y 3 de abril) a razón de 20-30cc/100lts de agua. Esto contribuyó a mantener la población de inmaduros/brote a niveles bajos durante este período, ya que este producto se reporta como un buen controlador de ninfas (Yamamoto *et al.*, 2009; Amorós *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar de los tratamientos químicos, la población de *Diaphorina* no se eliminó.

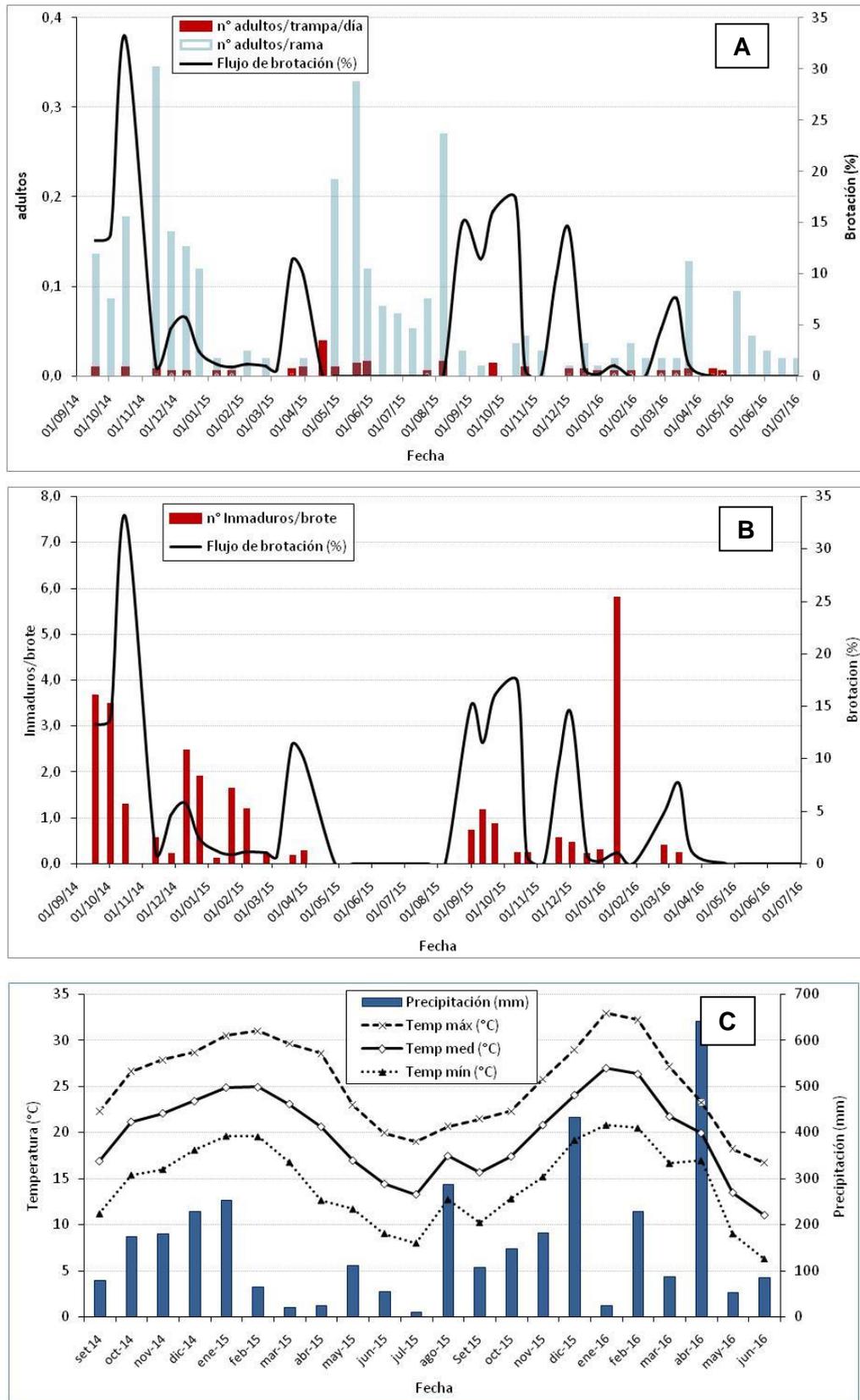
#### Itapebí- Lane Late

Coincidentemente con la información anteriormente mencionada de Queguay-cuadro Navel, para la variedad Lane Late, en Itapebí se registró la mayor captura de adultos mediante trampas amarillas en el otoño, con un pico máximo a fines de abril 2015 de 0.04 adultos/trampa/día, no ocurriendo brotación en esta fecha. Sin embargo en 2016 los registros de adulto/trampa/día fueron más bajos aunque se debe considerar que llovieron 780 mm en el otoño de este año.

En cuanto a la información de adultos/rama (Tap), en general los registros son mayores a los obtenidos en trampas amarillas notándose dos períodos con mayor abundancia: un pico máximo de 0.35 adultos/rama en la primavera 2014 y otro similar en el otoño 2015 (Figura 3 A). A partir de invierno 2015 la población del psílido en el cuadro en estudio descendió drásticamente, manteniéndose así hasta el invierno 2016 con algún incremento de capturas a fines de marzo de este año (Figura 3 A).

La población de inmaduros/brote se concentra en primavera-verano en ambos períodos de estudio. En la primavera-verano 2014-2015 la población de inmaduro/brote fue constantemente más alta mientras que la de primavera-verano 2015-2016 los registros fueron menores a excepción de un pico en el mes de enero de este último año. Sin embargo, aunque hubo muy pocos brotes en este mes, todos estaban infectados con estados inmaduros (Figura 2 B).

Al comparar los registros climáticos de la primavera-verano 2014-2015 y 2015-2016, se observa que las temperaturas medias promedio de ambos períodos fueron similares (22°C), sin embargo las lluvias acumuladas durante la primavera-verano fueron de 978mm y 1123 mm respectivamente. Podría ser este un factor que explique el descenso de las poblaciones más arriba mencionado.



**Figura 3.** A- Adultos/trampa/día, Adultos/rama y Flujo de brotación (%); B- Inmaduros/brote y Flujo de brotación (%); C- Precipitaciones (mm), Temperatura máxima (°C), Temperatura media (°C) y Temperatura mínima (°C). Itapebí.

## Conclusiones preliminares

En resumen la información analizada permite, de manera preliminar, hacer los siguientes comentarios:

- Generalmente el muestreo por golpeo de ramas (Tap) parece ser un método muy eficiente para develar la población de adultos que existe en el cultivo. En la época invernal, sin brotación y pocos adultos, el Tap detecta muy bien la presencia de *Diaphorina*.
- Tomando en cuenta los flujos de brotación, cuando la brotación es joven el Tap nos permite tener una buena representación de la población, sin embargo cuando la brotación ya está desarrollada las trampas amarillas también pueden brindar buena información acerca de la abundancia de la plaga.
- La temperatura es un factor fundamental para el desempeño de *Diaphorina*, épocas frías con temperaturas medias por debajo de 20°C parecen ser negativas afectando el desempeño de los individuos. Esto ocurre normalmente en invierno o en primaveras frías.
- Las lluvias parece tener un efecto muy negativo en las poblaciones de *Diaphorina*. Lluvias fuertes por encima de 100mm provocarían también un efecto de lavado mecánico.

## 2- Control biológico

### 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 EEUU, Florida, *T. radiata* fue introducido como parte de un programa de control biológico clásico de *D. citri* a fines de la década del 90 (Hoy y Nguyen, 2000) comenzando las actividades de ajuste de su cría a partir de la década del 2000. Luego de las liberaciones se estableció en Florida pero los índices de parasitismo no superaron el 2% (Michaud, 2004). 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 citricolas 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).

En nuestro país, en una primera etapa, se planteó la necesidad de ajustar la cría de *D. citri* sobre hospederos alternativos a *Murraya paniculata* para multiplicar a *T. radiata*, reportado a nivel local pero en bajas densidades (Asplanato *et al.*, 2011).

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).

### 2.1. Cría de *Diaphorina citri*

En las épocas menos frías del año (primavera a otoño), se trabaja 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, de acuerdo al método de Ferreira Diniz (2013). Durante el invierno la cría se realiza en una cámara hermética, con temperatura, humedad relativa y luz controlada (25°C, 60% HR) de acuerdo al método de Skelley y Hoy (2004).

Para la multiplicación de la plaga se utilizan 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 colocan 5 macetas de plástico negro 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 podan una semana previa a la liberación de adultos con el fin de obtener brotes aptos para la postura de huevos. Se liberan 120 adultos por jaula con un período pre-oviposición de al menos 10 días. Los mismos se retiran al séptimo día de su liberación (período de postura de huevos).

Se ha reportado que temperaturas entre 18 a 32°C permiten una alta viabilidad en el desarrollo ninfas, sin embargo cuando la temperatura supera los 32°C la misma se reduce drásticamente (Nava *et al.*, 2007). Varios autores mencionan que las condiciones entre 25°C y 28°C serían las más apropiadas para el desarrollo del ciclo de vida de *D. citri* en tanto que el insecto no completa su desarrollo a temperaturas de 10°C y 33°C (Tsai and Liu, 2000; Tsai and Liu, 2000).

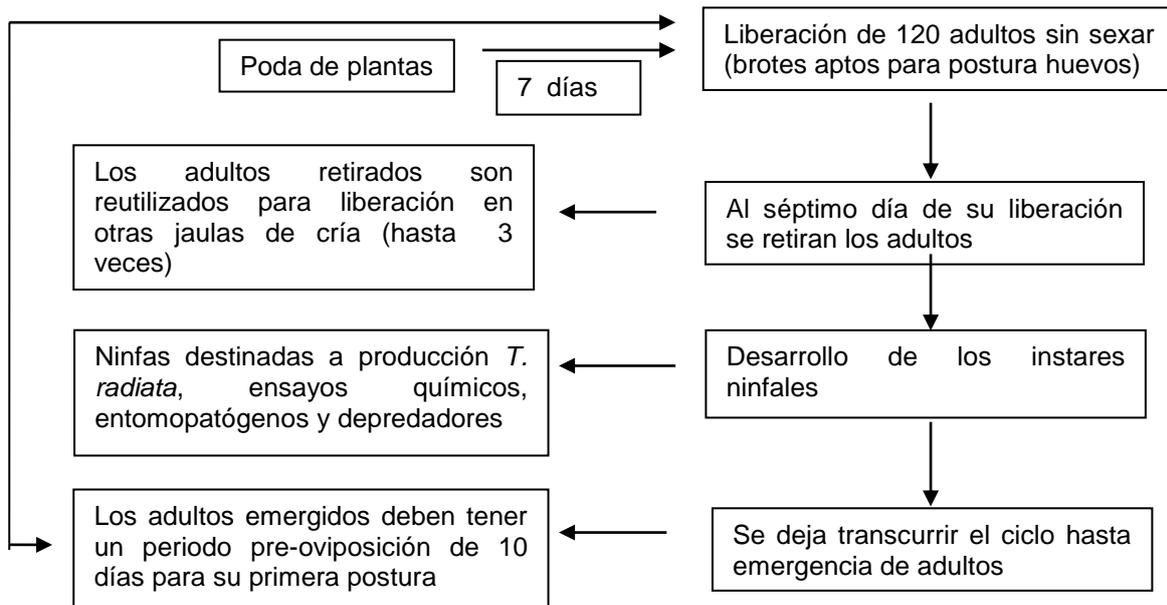


Figura 1: Esquema de la cría de *Diaphorina citri*

Tsai and Liu (2000) y Liu and Tsai (2000) mencionan que la duración del ciclo biológico de *D. citri* varía en función de la temperatura, desde 14,4 días a 28°C hasta 49,3 días a 15°C. Nuestros resultados indican que en verano, con temperaturas promedio de 26,6°C, humedad relativa 73,2% y luminosidad natural el ciclo dura aproximadamente 10 días desde huevo hasta la primera emergencia de adultos mientras que en invierno, en cámara hermética, en condiciones de 25°C, humedad relativa de 60% y luz artificial la duración del ciclo es de 12 días.

Los adultos de *D. citri* pueden vivir 25 a 30 días en los meses más cálidos y 35 a 75 días en los meses más fríos mientras que las hembras viven aproximadamente 5 días más que los machos (Pande, 1971). Sin embargo otros autores reportan que los adultos pueden sobrevivir más de 100 días en invierno aunque en verano la longevidad es bastante menor, aproximadamente de 20 días (Wenninger y Hall, 2007). Nava *et al* (2007) mencionan un umbral de desarrollo de 13°C y una constante térmica de 210 grados día.

Una vez emergidos los adultos son colectados con aspirador eléctrico y estoqueados en jaulas con plantas (sin brotes tiernos) con el objetivo de proporcionarles alimento, una vez que transcurre el periodo pre-oviposición están aptos para ser utilizados en la cría. Cuando finaliza un ciclo y las plantas salen de la cría son tratadas con aceite vegetal, con el fin de eliminar las ninfas que pudieron haber quedado en las mismas, y fertilizadas con macro y micro nutrientes, recibiendo también fertilizaciones foliares semanalmente. Luego se las deja reposar, en condiciones controladas, al menos un ciclo antes de ser reutilizadas.

Actualmente consideramos que la cría de *D. citri* en INIA SG se encuentra ajustada. La producción total de adultos en verano es de 700 individuos por jaula, mientras que en cámara hermética es de 500-550.

## 2.2. Ajuste de cría de *Tamarixia radiata*

*Tamarixia radiata* es un ectoparásitoide idiobionte específico de *D. citri* (Flores *et al.*, 2014) que durante las últimas décadas ha recibido 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. Si bien en los cítricos de Uruguay fue reportado a fines de la década del 2000, 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). Sin embargo en muchas regiones cítricas del mundo es un controlador que está siendo incorporado con muchas expectativas al manejo integrado de la plaga (Étienne *et al.*, 2001).

Se ha reportado que los adultos de *T. radiata* pueden ovipositar inmediatamente de la emergencia, independientemente si fueron o no apareados (Chien *et al.*, 1991a), 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. Este controlador biológico prefiere ovipositar en ninfas de 5<sup>to</sup> instar más que 4<sup>to</sup> y 3<sup>er</sup> (Chien *et al.*, 1991a), mientras que otros autores reportan que prefieren parasitar ninfas de 4<sup>to</sup> y 5<sup>to</sup> instar (Chu and Chien, 1991; Gomez-Torres, 2009), sin embargo hasta el momento en nuestra situación hemos encontrado mejores resultados trabajando sobre ninfas de 3<sup>er</sup> y 4<sup>to</sup> instar.

Las condiciones de nuestra cría son 25°C, 60% humedad relativa y 16:8 (luz:oscuridad). Gómez-Torres y Nava (2012) reportan que 25°C es la temperatura óptima para el crecimiento del parasitoide, además de obtenerse los mejores resultados en parasitación. La nutrición del parasitoide es un elemento básico a ser tenido en cuenta ya la misma le proporciona a las hembras proteínas esenciales para la maduración de sus huevos (Hoy *et al.*, 1999; Heimpel y Collier, 1996). Los adultos de *T. radiata* pueden consumir ("host feeding") del 1<sup>er</sup> al 3<sup>er</sup> instar y huevos de *D. citri* (Chu and Chien 1991, Gomez-Torres 2009). 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%, realizando un control total de 75% aproximadamente (Flores *et al.*, 2014). Por otra parte también se menciona que por acciones combinadas de la alimentación y el 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 ha priorizado el uso de Limón cravo (*Citrus limonia*), ya que sobre Naranja dulce (*Citrus sinensis*), en condiciones controladas, la parasitación no ha sido buena.

Una vez emergidos los adultos son colectados, sexados y puestos en grupos de 20 a 25 individuos en tubos de 100 ml con alimento (miel + ninfas 2<sup>do</sup> y 3<sup>er</sup> instar de *D. citri*) por 48 h. Luego son liberados en jaulas que contienen 5 macetas (2 plantas/maceta), 4 de ellas están infectadas con ninfas 3<sup>er</sup> y 4<sup>to</sup> instar, y otra con ninfas 2<sup>do</sup> y 3<sup>er</sup> instar con el fin de proporcionarles la mencionada nutrición. En resumen por jaula se liberan entre 80-100 adultos (50% el primer día, 50% el segundo día), el 70% de los adultos liberados

generalmente son hembras y previo a su liberación son alimentados como se describe anteriormente.

A los 10 días de su liberación se colectan los brotes con las ninfas parasitadas y son llevados a cajas de emergencia en condiciones controladas de 27°C y 650 klux. Al día comienzan a emerger los adultos y comienza el ciclo nuevamente.

La cría de *T. radiata* actualmente esta en proceso de ajuste. Aunque la producción del parasitoide ha sido inestable, se ha comenzado a obtener jaulas con más de 400 parasitoides. Se continúa con todas las actividades necesarias para estabilizar la cría y lograr el fin del proceso en los próximos meses.

Fecha	N° jaula	Días	Total liberados	Total obtenidos
28/29 junio	8	2	72	480
29/30 julio	19	2	91	227
15/16 agosto	26	2	81	260
29/30 setiembre	51	2	79	359
13/14 octubre	56	2	88	102

Cuadro 1: Producción de *T. radiata*

### 3- Control de *Diaphorina citri* mediante el uso de productos químicos eco-compatibles

Uno de los pilares claves para el control del HLB es el control de las poblaciones de su vector, *D. citri* (Grafton-Cardwell *et al.*, 2013). Dado que la erradicación total del psílido en una región es prácticamente inalcanzable, las poblaciones deben ser mantenidas tan bajas como sea posible (Boina and Bloomquistb, 2015). Mundialmente esto ha llevado tanto al incremento del uso de insecticidas de diferentes grupos químicos como del número de aplicaciones (de 1 a 21 aplicaciones al año), con costos anuales por hectárea que pueden variar entre 240 y 1000 USD dependiendo del insecticida, frecuencia y método de aplicación (Boina and Bloomquistb, 2015). El uso masivo de insecticidas de amplio espectro además de resultar insostenible a largo plazo, con desarrollo de resistencia de la plaga y consecuencias negativas para el medio ambiente y los enemigos naturales (Mann *et al.*, 2012), no resulta una alternativa viable para la condiciones citrícolas del Uruguay. Dadas las exigencias de los mercados importadores, los niveles máximos de residuos en fruta son nulos o muy bajos y los productos posibles de utilizar son muy pocos. A su vez el control de las plagas debe contemplar la conservación de los enemigos naturales presentes en los montes citrícolas e integrar otros si así se requiere.

Buscando la selección de productos candidatos a ser incluidos en un manejo integrado de *D. citri*, se evaluó la eficiencia insecticida frente a estadios inmaduros (ninfas), a los productos seleccionados en esta primera etapa, se les testeó la actividad anti-alimentaria y repelencia frente a adultos.

Código	Producto comercial	Principio activo	Dosis %	Control insecticida campo	Control insecticida invernadero	Actividad anti-alimentaria	Actividad repelente
agua (testigo)	...	...					
Imidacloprid (control positivo)	Spingard 35 F	Imidacloprid 350 gL-1	0.04				
Abamectina	Facily 18 EC	Abamectina 18 gL-1	0.05	•	•	•	
Movento	Movento 150 OD	Spirotetramat 150 gL-1	0.075	•	•	•	
Neem 10000	Nico Neem	azadiractina 1.0% + aceite de neem 30.0%	0.5	•	•	•	
Neem 300	Neem Super	azadiractina 0.03% + aceite de neem 90.57%	0.25	•	•	•	
AS Prodinoleo*	Prodinoleo	Aceite de Soja	1	•	•	•	•
AM Argenfrut*	Argenfrut	Aceite mineral	1	•	•	•	•
AM + Silwet	Silwet + Aceite mineral Argenfrut	Aceite mineral + coadyuvante	0.5 / 0.02	•			
Silwet	Silwet L77	Surfactante no iónico	0.02	•			
AS Stoller	Stoller	Aceite de Soja	1	•			
AM Argenfrut 0.5	Argenfrut	Aceite mineral	0.5	•			
AM Elf	Elf	Aceite mineral	1	•			
AM Pioneer	Pioneer	Aceite mineral	1	•			

**Tabla 1. Productos ensayados.** \* Se seleccionó un aceite de soja (*Prodinoleo*) y aceite mineral (*Argenfrut*) como aceites de referencia. Aceite de soja y Aceite mineral se refiere a estos productos a menos que se especifique lo contrario.

### 3.1. Evaluación de actividad insecticida

Se testeó en primera instancia la actividad insecticida de principios activos que han sido reportados como eficientes para el control de *D. citri*, con diferentes mecanismos de acción, focalizando en insecticidas de bajo impacto. Se realizó la evaluación de la eficiencia a corto plazo frente a estadios inmaduros del psílido a dos niveles: invernadero y campo.

El ensayo en invernadero permitió conocer el potencial de los productos en condiciones semi-controladas y a nivel de campo se pretendió evaluar el comportamiento bajo condiciones de producción.

#### Materiales y Métodos

- **Evaluación de actividad insecticida en condiciones semi-controladas en invernadero**

Se seleccionaron plantines en macetas, infectados con ninfas del 3º estadio. Se aplicaron 6 tratamientos (Tabla 1), más un control positivo (Imidacloprid) y un testigo (agua). Se pulverizaron los plantines con los tratamientos, girando la planta 4 veces y realizando 3 disparos en cada una de las 4 rotaciones, para producir finas gotas que cubrieron el follaje. Una vez secas las plantas, se colocaron 3 macetas en jaulas de malla blanca de 46 cm x 46 cm de base y 56 cm de alto, cada jaula correspondiente a 1 tratamiento. Las jaulas se colocaron en un invernadero de vidrio a  $23 \pm 10^\circ\text{C}$  (Srinivasan *et al.*, 2008). Se

realizaron 3 repeticiones por tratamiento (cada maceta 1 repetición). Se realizó la evaluación a los 3 días, retirando los brotes de los plantines y contando el total de ninfas vivas y muertas por brote bajo lupa.

- **Evaluación de actividad insecticida a campo en pequeña escala**

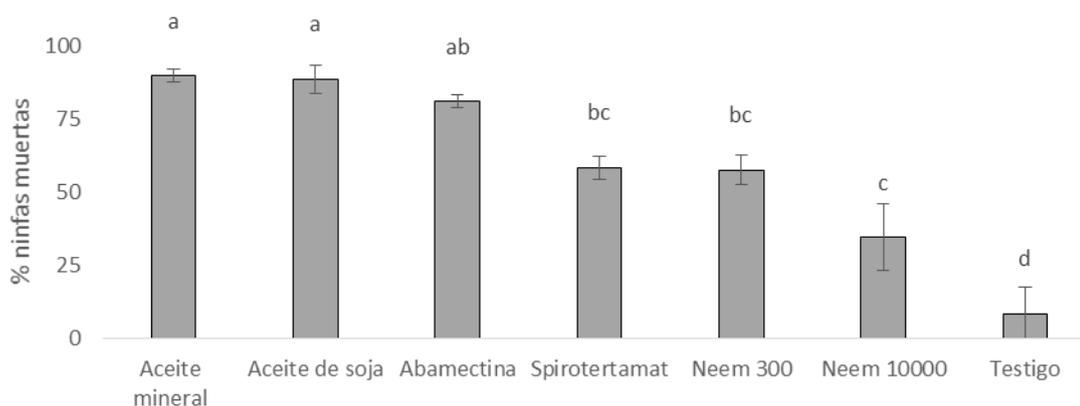
Se evaluaron a campo productos insecticidas frente a estadios inmaduros del psílido (Tabla 1). Los ensayos se realizaron en un predio comercial sobre un cuadro de Lane-Late de 3 años, en la localidad de San Antonio (Lat. -31.38, Long. -57.75), febrero, abril y diciembre 2015. Se realizaron 2 ensayos, uno evaluando distintos principios activos, y otro evaluando diferentes aceites tanto minerales como vegetales, diferentes dosis y un coadyuvante tensoactivo. En ambos ensayos se pulverizó con agua solamente como testigo. Las parcelas fueron conformadas por al menos 50 ninfas, según la metodología propuesta por Lizondo (Lizondo *et al.*, 2014). Los bordes de cada parcela se constituyeron por una planta en cada extremo y una fila entre ellas. Se realizaron pulverizaciones con mochila, siendo el gasto de agua en promedio 1,9 L por planta. Luego de secos los brotes se cubrieron con bolsas de voile. A los 4 días se extrajeron los brotes y se contó el total de ninfas vivas y muertas bajo lupa. Se realizó el mismo procedimiento para la muestra pre-aplicación en el día 0 del ensayo. Se conformaron 3 bloques con parcelas al azar, una parcela correspondió a un tratamiento, cada bloque una repetición. El ensayo 1 se repitió a su vez en 2 fechas. El ensayo 2 se considera aún preliminar ya que hasta el momento fue realizado en una sola fecha.

- **Análisis estadístico**

Los resultados se analizaron mediante un Modelo Lineal Generalizado Mixto (procedimiento GLIMMIX), asumiendo distribución binomial para la variable proporción de insectos muertos en el total de insectos contados y una función de enlace Logit. Las medias se separaron por un test de Tukey-Kramer, mediante el procedimiento LS-means ( $p < 0.05$ ).

## **Resultados y discusión**

En la Figura 1 se detallan los resultados obtenidos en el ensayo en invernadero. Se observa que los aceites de soja y mineral presentaron un excelente control, superior al 90%, a los 3 días post-aplicación. Abamectina no se diferenció significativamente de los mismos, con un control levemente inferior. Es probable que por el mecanismo de acción, algunos productos estén subvalorados al 3º día post-aplicación, como es el caso de Spirotetramat, que dado su mecanismo de acción sistémico, requiere de un mayor tiempo para resultar eficiente.

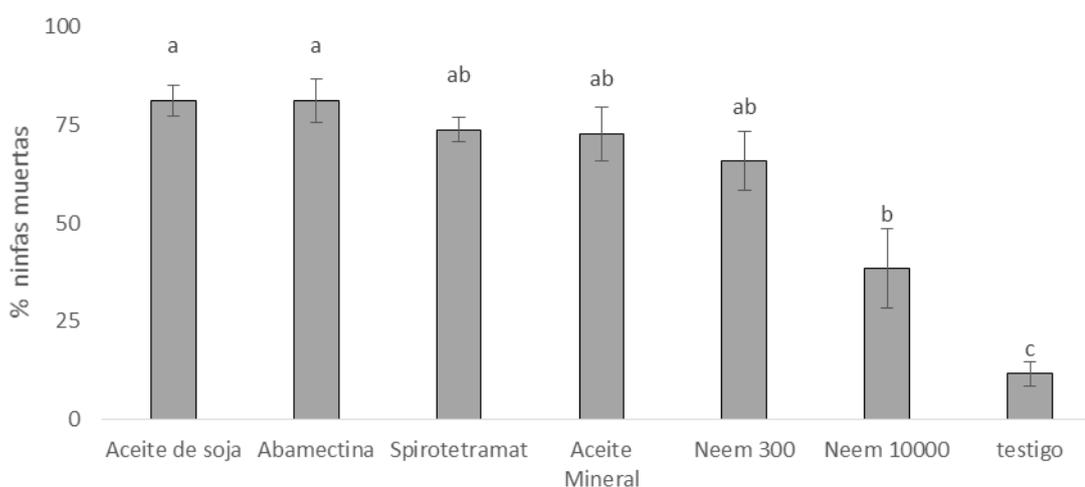
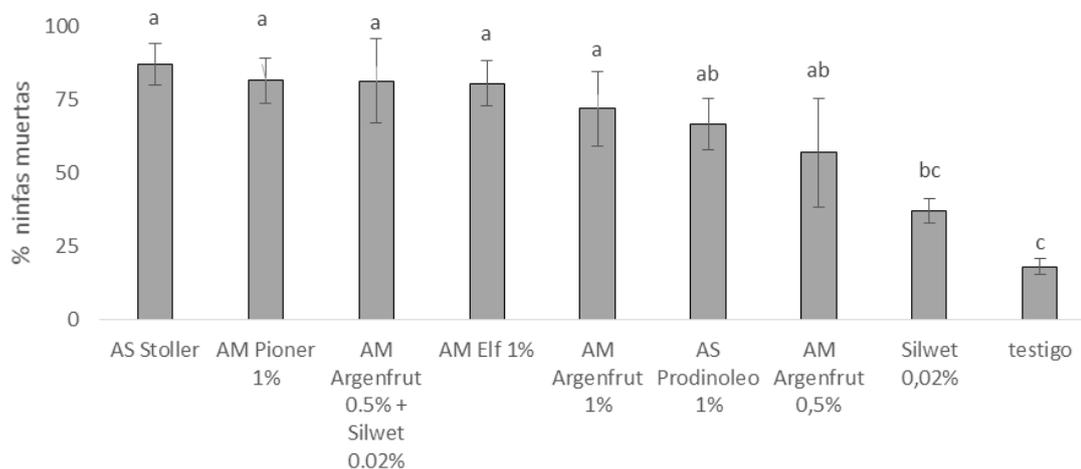


**Figura 1. Evaluación de actividad insecticida en invernadero.** Las barras indican la media del porcentaje de ninfas muertas (del 3° al 5° estadio)  $\pm$  error estándar, a los 3 días post-aplicación. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (GLMMIX  $p < 0.05$ ).

En la Figura 2 (Gráfica a) se pueden observar los resultados de ambos ensayos a campo. De los principios activos evaluados Aceite de Soja, Abamectina, Spirotetramat, aceite mineral y Neen 300 tienen un efecto insecticida, diferenciándose del testigo a su vez Aceite de soja y Abamectina presentaron un control superior al 80%.

Todos los aceites evaluados a una dosis de 1% presentaron actividad insecticida frente a ninfas de *D. citri*. No se observaron diferencias significativas entre los distintos aceites. Para el aceite mineral *Argenfrut* (aceite referencia) se probó la disminución de un 50% en la dosis, si bien hay una tendencia a la baja en porcentaje de control, la misma no resulta significativa. A su vez el agregado al aceite al 0,5% de un coadyuvante *Silwet* al 0,02%, tiende a aumentar la eficiencia insecticida de dicha aplicación.

Se observó que Imidacloprid presentó una mortalidad cercana al 100% en todos los ensayos, y por esta razón no fue incluido en el análisis, se corrobora su utilidad como control positivo, si bien su utilización no es recomendada como pulverización por ser un insecticida neurotóxico de amplio espectro, altamente tóxico para enemigos naturales (Grafton-Cardwell *et al.*, 2013).

**a.**

**b.**


**Figura 2. Evaluaciones de actividad insecticida a campo.** Las barras indican la media del porcentaje de ninfas muertas (del 3° al 5° estadio)  $\pm$  error estándar, a los 4 días post-aplicación. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (GLMMIX  $p < 0.05$ ). **a.** Evaluación de distintos principios activos. **b.** Evaluación de distintos aceites.

Los resultados de los experimentos en condiciones controladas y campo demuestran consistentemente que los aceites proveen un excelente control para estadios inmaduros de *D. citri*. La utilización de estos productos se presentan como una herramienta interesante para un manejo integrado de la plaga, sin reportes de generación de resistencia, sin problemas de residuos en fruta y bajo impacto para enemigos naturales (Cocco and Hoy, 2008; Ouyan *et al.*, 2013)

### 3.2. Evaluación de actividad anti-alimentaria

La evaluación de actividad anti-alimentaria implica el estudio de la inhibición o reducción en la alimentación producida por la presencia del producto en la planta. Conocer dicha propiedad es de gran relevancia para este insecto vector, al estar la transmisión de la enfermedad directamente relacionada con su alimentación. Se testeó dicha actividad en

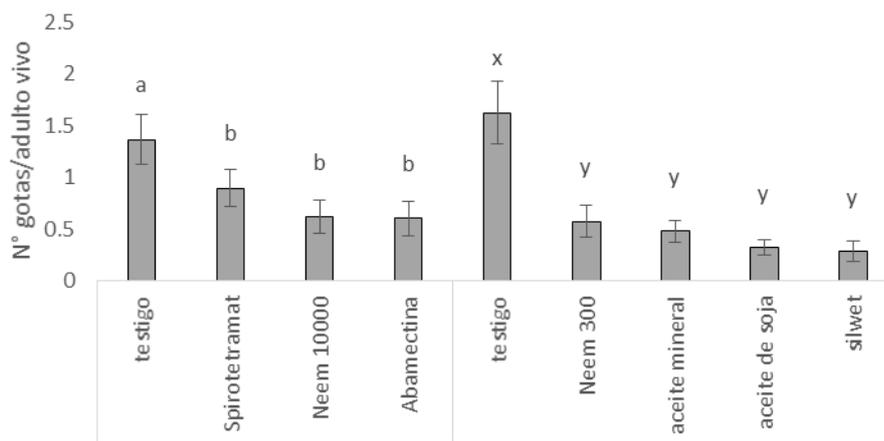
los productos de recomendación internacional como insecticidas para estadios inmaduros del psílido.

### **Materiales y métodos**

Se utilizó una técnica de evaluación indirecta, donde se contabilizan los desechos de alimentación (mielecilla) (Boina, D.R., et al., 2009). Para esto se realizaron 2 ensayos. Ensayo 1. Se evaluaron principios activos con reportada acción sistémica, con distintos mecanismos de acción: Spirotetramat, Abamectina y Neem 10000 (tabla 1). Se sumergieron hojas tiernas de cítricos recién cortadas por 24 h en soluciones acuosas de los productos a testear y posteriormente se dejaron secar. Ensayo 2. Se evaluaron distintos aceites: Aceite de Soja, Aceite Mineral y Neem 300 (tabla 1). Se pulverizaron plantines con los productos a testear y una vez secas se extrajeron las hojas. Se utilizó en ambos ensayos agua destilada como control negativo. Las hojas se cortaron en discos que se colocaron en la base de placas de Petri, en cuya tapa se colocó papel de filtro. Se liberaron 6 adultos de *D. citri* por placa y éstas se mantuvieron con su base colocada hacia arriba por 24 h a 24 °C y un fotoperiodo de 16:8 (luz:oscuridad). Los papeles de filtro se revelaron pasadas las 24 h sumergiéndolos en una solución de ninhidrina al 1% y se contabilizaron las gotas de mielecilla, que se observaron como manchas violeta oscuro. Cada placa conformó una repetición y se realizaron un total de 10 repeticiones en un máximo de 3 fechas. El número de gotas por adulto vivo se analizó mediante un modelo lineal generalizado (GLM) ( $p < 0.05$ ).

### **Resultados y discusión**

En la figura 3 se puede observar que todos los productos evaluados redujeron significativamente la alimentación de adultos *D. citri* a las 24 h post-aplicación. La deterrencia (repeler) de la alimentación de los adultos, si bien hasta el momento se evaluó en el corto plazo, se suma a la capacidad insecticida en ninfas, protegiendo a la planta de una forma integral. Esta actividad puede colaborar a que, mientras el producto esté presente en la planta, sea más dificultosa la adquisición de la bacteria en ninfas y adultos ya que esto requiere un tiempo mínimo de alimentación (Boina *et al.*, 2009), y a su vez la dispersión se ve restringida.



**Figura 3. Evaluaciones de actividad anti-alimentaria.** Las barras indican el promedio de N° de gotas por adulto vivo  $\pm$  error estándar, a las 24 h de colocados los insectos. Medias con una letra en común no son significativamente diferentes (GLM  $p < 0.05$ ).

### 3.3. Evaluación de actividad repelente

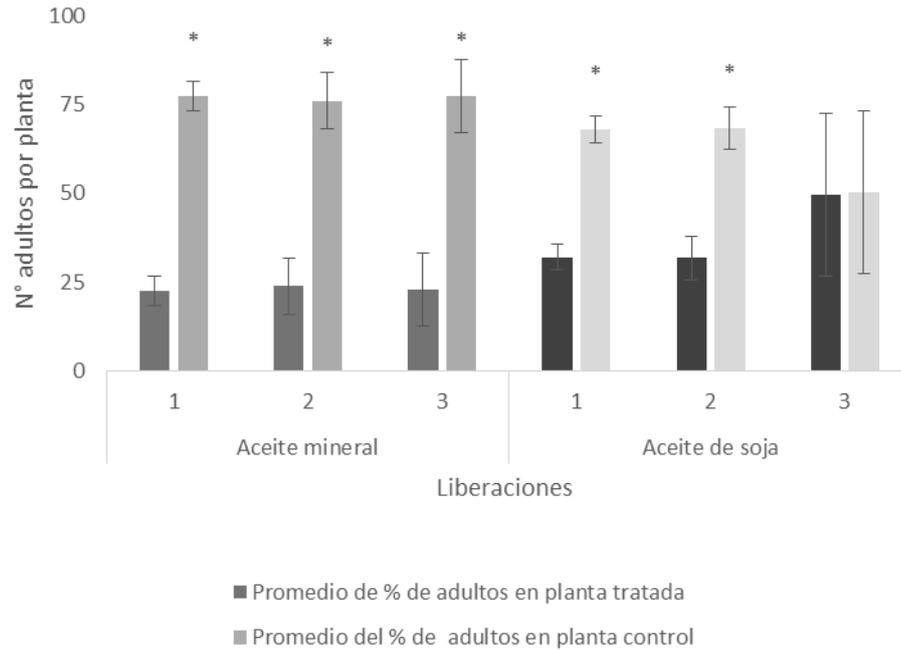
Se realizó la evaluación de capacidad repelente de adultos de *D. citri* de los 2 aceites de referencia (ver 3.1) al 1%, en condiciones semi-controladas de invernadero. Se estudió la actividad en el tiempo, con sucesivas liberaciones. Esto permitió conocer el potencial de estos productos y la duración de la actividad en condiciones no agresivas.

#### Materiales y métodos

Se pulverizaron plantines cítricos con los tratamientos, girando la planta 4 veces, realizando 3 disparos en cada una de las 4 rotaciones, para producir finas gotas que cubrieron el follaje. Una vez secas las plantas se colocaron en jaulas de malla blanca de 46 cm x 46 cm de base y 56 cm de alto, dentro de cada jaula se colocaron 2 macetas, una tratada y una no tratada. Cada jaula correspondió a 1 tratamiento. Se realizaron 3 liberaciones de 30 adultos de *D. citri* a las 0 h, 48 h y 1 semana post-aplicación. El número de adultos posados sobre cada planta se registró luego de 24 h de liberados. Se realizaron 3 repeticiones para cada tratamiento, divididas en 2 fechas. El total de adultos en la planta tratada y control se analizó mediante un test de  $\chi^2$  para cada liberación.

#### Resultados y discusión

En la Figura 4 se muestran los resultados obtenidos, los mismos se consideran aun preliminares. Se observa que a las 24 h de la 1° y 2° liberación (0 y 48 h post-aplicación) los insectos prefirieron significativamente la planta control a la planta tratada, para ambos aceites. En la 3° liberación, realizada a 1 semana de la aplicación, se observa que el aceite mineral mantendría el efecto, mientras que en el aceite de soja los insectos se distribuyen equitativamente. Estos experimentos continúan en proceso.



**Figura 4. Actividad repelente de aceites.** Las barras indican la media del porcentaje de adultos de *D. citri* en la planta con tratamiento y planta control  $\pm$  error estándar. Se muestran los resultados a las 24 h de liberados los insectos (3 liberaciones a 0, 48 h y 1 semana post-tratamiento). \* indican diferencias significativas entre control y tratamiento ( $\chi^2$  p < 0.05).

## Conclusiones

Todos los aceites tanto minerales como vegetales estudiados presentaron muy buena actividad insecticida al 1% frente a estadios inmaduros de *D. citri*. La disminución de dosis al 0,5% resultó también efectiva así como también la aplicación conjunta aceite al 0,5% y *silwet* al 0,02%. A su vez los aceites de referencia presentaron actividad antialimentaria a las 24 h y actividad repelente por 48 h post-tratamiento frente a adultos en condiciones controladas. Se puede resumir a los aceites entonces como una herramienta eficiente y eco-compatible tanto para estadios inmaduros como adultos de *D. citri* control, que proveen un control integral a corto plazo, sin riesgo de generación de resistencia y sin dejar residuos en fruta.

Otros principios activos como abamectina, spirotetramat y aceites de neem también mostraron buenos resultados en el control de ninfas, presentandose como alternativas aplicables para la rotación de productos.

La selección del producto y el momento de aplicación será crítica y deberá basarse en el monitoreo de poblaciones y de las brotaciones.

### 3.4. Toxicidad de productos a *Tamarixia radiata*. Primeros resultados.

#### Introducción

Con el fin de completar el estudio de algunos productos que presentaron un buen control en campo sobre ninfas de *Diaphorina citri* en nuestras condiciones, se planteo la necesidad de comenzar a estudiar la sensibilidad de éstos sobre *Tamarixia radiata*. La información generada contribuirá al manejo integrado de *Diaphorina citri*.

El objetivo fue determinar la toxicidad de Abamectina 18 CE (50cc/100l), Aceite mineral (Argenfrut) (1L/100l), Aceite de soja (Prodinoleo) (1L/100l) y Spirotetramat 150 gL<sup>-1</sup> (75cc/100) en el parasitoide.

#### Materiales y métodos

Los ensayos se realizaron en cajas de petri, a cada caja se le realizó un par de orificios cubiertos con voile para permitir la circulación de aire y evitar que ocurra condensación. Una fina capa de agar (7g/500 ml agua) cubrió el fondo de cada una con el fin de dar soporte a una hoja de naranjo dulce (*Citrus sinensis*). En la tapa de la caja se le colocaron finos trazos de miel con el fin de alimentar los adultos.

Se pulverizaron las hojas de naranjo dulce (*Citrus sinensis*) con los productos a testear, se dejó secar el material en condiciones naturales. Una vez secas las hojas se liberaron los adultos y se trasladaron a condiciones controladas de 26°C, 75%HR y 14:10 (luz:oscuridad). La unidad experimental fue la caja de petri, dentro de cada caja se trabajó con 10 adultos, cada tratamiento se repitió 5 veces. La evaluación consistió en contabilizar vivos y muertos a las 48 h de finalizado el experimento.

Se repitió dos veces el experimento anteriormente descrito, los datos fueron analizados en su conjunto.

- **Análisis estadístico**

Los resultados se analizaron mediante un Modelo Lineal Generalizado Mixto (procedimiento GLIMMIX), asumiendo distribución binomial para la variable proporción de insectos muertos en el total de insectos contados y una función de enlace Logit. Las medias se separaron por un test de Tukey-Kramer, mediante el procedimiento LS-means ( $p < 0.05$ ).

### Resultados y discusión

Abamectina	3,0 a
Aceite soja	0,69 b
Aceite mineral	0,24 b
Spirotetramat	-0,64 c
Control	-2,21 d

**Tabla 2:** Toxicidad de insecticidas en residuos secos sobre hojas para *T.radiata*

Los resultados indican que abamectina (50cc/100l) resultó ser altamente tóxica para *T. radiata* en residuos en hoja (95% de muertes), coincidiendo con lo reportado por Hall and Nguyen, 2010 donde encontraron un efecto del 100%. Sin embargo los aceites presentaron una mortalidad del 66% sobre adultos de *Tamarixia*, a diferencia de lo reportado por Hall y Nguyen (2010) quienes reportaron una de mortalidad del 88%. El spirotetramat parece ser un producto muy prometedor para integrarlo al control de ninfas de *Diaphorina citri* con un control de 75% sin afectar demasiado al enemigo natural mencionado.

### Conclusiones

Abamectina resultó un producto de alto impacto sobre *T. radiata* en las condiciones del experimento. Los aceites evaluados, si bien afecta al parasitoide se debe generar una estrategia de uso conveniente dado su importancia para nuestra citricultura. El spirotetramat tiene un buen control de ninfas de *Diaphorina* en campo y no afecta demasiado a los adultos de *Tamarixia radiata*.

## Bibliografía

Amorós ME, Pereira das Neves V, Galván, V, Franco J, Rossini C, Buenahora J. 2015. Evaluación a campo de productos insecticidas para el control de *Diaphorina citri*. In "VIII Congreso Argentino de Citricultura". Bella Vista, Corrientes, Argentina.

Aubert, B. 1987. Trioza erythrae del Guercio and *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of the citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. *Fruits* 42: 149-162.

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.

Boina DR, Onagbola EO, Salyani M, Stelinski L L. 2009. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Management Science*. 65: 870-877.

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

Briansky, R.H. & M.E. Rogers. 2007. Citrus huanglongbing: understanding the vector pathogen interaction for disease management. APSnet. <http://www.apsnet.org.online/feature/HLB/>

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<sup>a</sup>. 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.

Cocco A, Hoy M. 2008. Toxicity of organosilicone adjuvants and selected pesticides to the Asian citrus psyllid (Hemiptera:Psyllidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Florida Entomologist*. 91.

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.

Ferreira Diniz AJ. 2013. Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera : Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo. Tesis Doctoral en Entomología. Piracicaba, Brasil. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 128 p.

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 AP, Castro Avila MY, Santamaria Galindo. 2011. Primer registro de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) en Colombia. *Rev. Fac. Nac. Agron.* 64: 6141–6146.

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.

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

Hall G and Nguyen R. 2010. Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid. *Biocontrol*. 55:601-611

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

Hoy M, Nguyen R, Jeyaprakash A. 1999. Classical biological control of the Asian citrus psylla – release of *Tamarixia radiata*. *Citrus Indus* 80: 20–22.

Hoy MA, Nguyen R. 2000. Classical biological control of Asian citrus psylla. *Citrus Industry* 81 (12), 48–50.

Liu YH and Tsai JH. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera:Psyllidae). *Ann. Appl. Biol.*137:201-206.

Lizondo M, Martínez D, Pérez D, Augier L, Gastaminza G. 2014. Eficacia de Harier en el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) en cítricos del noroeste argentino. In "IV Simposio Nacional y I Congreso Latinoamericano de Citricultura", Salto, Uruguay.

McFarland CD and Hoy MA. 2001. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae). Under different relative humidities and temperature regimes. *Florida Entomol.* 84: 227-233.

Mann RS, Tiwari S, Smoot, JM, Rouseff RL, Stelinski LL. 2012. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Applied Entomology* 136: 87-96.

Michaud, J. P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biological Control* 29: 260-269.

Nava DE, Torres MLG, Rodrigues MDL, Bento JMS, Parra JRP. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *J. Appl. Entomol.* 131 (9-10), 709-715.

Ouyan G, Fang X, Lu H, Zhou X, Meng X, Yu S, Guo M, Xia Y. 2013. Repellency of five mineral oils against *Diaphorina citri* (Hemiptera: liviidae). Florida Entomologist 96(3): 96.

Pande YD. 1971. Biology of citrus Psylla, *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae). Israel J. Entomol. 5:307-311.

Parra J, Alvez G, Ferreira Diniz A, Mendes Vieira J. 2016. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera- Eulophidae) x *Diaphorina citri* (hemíptera: 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.

Skelley LH and Hoy MA . 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. Biol. Control 29: 14–23.

Srinivasan R, Hoy MA, Singh R, Rogers ME. 2008. Laboratory and field evaluations of Silwet L-77 and kinetic alone and in combination with imidacloprid and abamectin for the management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Florida Entomologist 91: 87-100.

Tsai JH and Liu YH. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homóptera: Psyllidae) on Four Host Plants. J. Econ. Entomol. 96 (6):1721-1725.

Wenninger EJ and Hall G. 2007. Daily and seasonal patterns in abdomen color in *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae). Annals Entomol. Soc. America. 101: 585-592.

Yamamoto PT, Felipe MR, Sanchez, AI, Coelho JHC, Garbim LF; Ximenes NL. 2009. Eficácia de insecticidas para o Manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Citros. BioAssay 4:4.