

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

ABUNDANCIA Y AGREGACIÓN DE *DIAPHORINA CITRI* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)

por

Soledad Noris AMUEDO SENA

TESIS presentada como uno de los requisitos
para obtener el título de
Magister en Ciencias Agrarias
opción Ciencias Vegetales

MONTEVIDEO
URUGUAY

diciembre 2010

Tesis aprobada por el tribunal integrado por el Dr. César Basso, el Msc. Saturnino Nuñez y el Dr. Pedro Yamamoto el 17 de diciembre de 2010. Autor: Ing. Agr. Soledad Amuedo, Directora: Dra. Gabriela Asplanato. Co-Director: Dr. Jorge Franco.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Gabriela Asplanato por la orientación y confianza brindada.

A la Ing. Agr. Leticia Rubio por el apoyo en las actividades de campo y procesamiento de muestras en laboratorio.

A el Dr. Jorge Franco por las correcciones, sugerencias, y los análisis estadísticos realizados.

A la Msc. Alejandra Borges por el apoyo estadístico brindado.

A la Msc. Victoria Calvo por la corrección de los resúmenes en inglés.

A las empresas citrícolas donde fueron realizados los estudios, Establecimientos Costa de Oro e Itapebí.

Al tribunal de evaluación, Ing. Agr. Dr. César Basso, Ing. Agr. Msc. Saturnino Nuñez y Ing. Agr. Dr. Pedro Yamamoto

Al personal de la biblioteca de la Facultad de Agronomía.

A mis padres.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PAGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
SUMMARY.....	VII
<u>1. INTRODUCCIÓN.....</u>	<u>1</u>
1.1 TAXONOMIA DE <i>DIAPHORINA CITRI</i>	2
1.2 MORFOLOGÍA Y CICLO DE VIDA.....	3
1.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y PLANTAS HOSPEDANTES.....	4
1.4 DAÑOS E IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	5
1.5 BIOLOGÍA.....	7
1.6 FLUCTUACIÓN DE POBLACIONES.....	9
1.7 ESTIMACIÓN DE LAS POBLACIONES.....	10
1.8 AGREGACIÓN DE LAS POBLACIONES.....	11
<u>2. EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE MONITOREO DE ADULTOS DE <i>DIAPHORINA CITRI</i></u> <u>(HEMIPTERA: PSYLLIDAE).....</u>	<u>13</u>
2.1 RESUMEN.....	13
2.2 SUMMARY.....	14
2.3 INTRODUCCIÓN.....	15
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
2.6 BIBLIOGRAFÍA.....	29
<u>3. ABUNDANCIA Y FLUCTUACIÓN DE LAS POBLACIONES DE <i>DIAPHORINA CITRI</i></u> <u>(HEMIPTERA: PSYLLIDAE) EN CÍTRICOS DE URUGUAY</u>	<u>33</u>
3.1 RESUMEN.....	33
3.2 SUMMARY.....	34
3.3 INTRODUCCIÓN.....	35

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
<u>3.5.1 Abundancia de inmaduros por tipo de brote</u>	38
<u>3.5.2 Abundancia anual y fluctuación de poblaciones</u>	39
<u>3.5.3 Parasitismo</u>	44
3.6 BIBLIOGRAFÍA.....	45
<u>4. AGREGACIÓN DE LAS POBLACIONES DE <i>DIAPHORINA CITRI</i> (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)</u>	
<u>EN CÍTRICOS</u>	49
4.1 RESUMEN.....	49
4.2 SUMMARY.....	50
4.3 INTRODUCCIÓN.....	51
4.4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	52
4.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
<u>4.5.1 Agregación de las poblaciones de adultos e inmaduros</u>	54
<u>4.5.2 Distribución de adultos e inmaduros en la planta en relación a los puntos cardinales</u> ...	56
4.6 BIBLIOGRAFÍA.....	58
<u>5. CONCLUSIONES</u>	60
<u>6. BIBLIOGRAFÍA</u>	62

RESUMEN

Diaphorina citri es el vector más eficiente de *Candidatus Liberibacter* spp. bacterias asociadas al Huanglongbing (HLB). En Uruguay, HLB no ha sido descubierto hasta el momento, pero en 2004 fue reportado en San Pablo (Brasil) y posteriormente en Minas Gerais y Paraná. Los objetivos de este trabajo fueron: evaluar tres métodos de monitoreo de adultos, estudiar la abundancia y fluctuación de las poblaciones y determinar el patrón de dispersión espacial de inmaduros y adultos de *D. citri*. Se seleccionaron dos parcelas localizadas en predios comerciales de Paysandú y Salto. Los muestreos se realizaron quincenalmente, en cada sitio fueron seleccionados 25 árboles, en cada planta se colocó una trampa adhesiva amarilla, y se escogió una rama al azar de cada cuadrante donde el número de adultos fue registrado usando dos métodos, inspección y golpeo de ramas. Se tomaron dos brotes al azar de cada cuadrante del árbol. Se contabilizó el número de huevos, ninfas vivas y parasitadas por brote. El método de golpeo fue el más eficiente en estimar la abundancia de psílidos y detectar árboles infestados con adultos. Las poblaciones fueron máximas entre fin de verano y principio de otoño. El parasitismo fue bajo, la presencia de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) fue constatada. El patrón de dispersión de inmaduros fue agregado. La agregación de adultos varió entre sitios y métodos de monitoreo. La abundancia de inmaduros y adultos no varió entre los cuadrantes de las plantas.

Palabras clave: HLB, psílido, trampas adhesivas, patrón de dispersión, citrus

ABUNDANCE AND AGGREGATIONS OF *DIAPHORINA CITRI* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)

SUMMARY

Diaphorina citri is the most efficient vector of *Candidatus Liberibacter* spp., bacterium associated to Huanglongbing (HLB). In Uruguay, HLB has not been discovered yet, but in 2004 was reported in San Pablo (Brazil) and later in Minas Gerais and Paraná. The aims were: to evaluate three sampling methods of adults, to study the population abundance and fluctuation and to determine the spatial dispersion pattern of *D. citri* immature and adults. Two citrus orchards were selected located in commercial groves in Paysandú and Salto. The samplings were performed biweekly from August 2008 to June 2009. Twenty- five trees were selected in each orchard, in each tree was hung a yellow sticky trap, and a stem was randomly chosen from each quadrant of the tree where the number of adults was registered using two methods, visual inspection and stem-tap sampling. Two flushes randomly selected in each quadrant of the tree were taken, the number of eggs, live nymphs, and parasitized nymphs were counted per flush. The stem-tap sampling was the most efficient method to estimate the psyllid abundance and to detect infested tree with adults. The population was the highest during late summer and beginning of autumn. The parasitism was low, the presence of the ectoparasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) was observed. The dispersion pattern of immature was aggregated. The aggregation of adults varied between orchards and sampling methods. The immature and adults abundance not varied between canopy quadrants.

Keywords: HLB, psyllid, yellow sticky traps, dispersion pattern, citrus

INTRODUCCIÓN

La citricultura es uno de los rubros agrícolas de mayor importancia económica en Uruguay, con aproximadamente 16146 hectáreas cultivadas. El principal objetivo del sector es la producción de fruta fresca para la exportación. Existen dos zonas donde se concentra la producción, éstas son: el norte y sur del país. La zona norte es la más extensa y comprende los departamentos de Salto, Paysandú y Río Negro. La zona sur incluye la faja costera del departamento de San José, parte de Canelones, Montevideo y en menor medida Colonia y Maldonado (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Dirección de Estadísticas Agropecuarias, 2009 y 2003).

La enfermedad conocida con el nombre 'Huanglongbing' (HLB) es uno de los problemas sanitarios más importante de los cítricos en el mundo. Hasta el momento, ninguna medida de control se conoce, exceptuando la prevención. El agente asociado es una bacteria del género *Candidatus Liberibacter*. Se han identificado tres especies, éstas son: *Ca. L. asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus*. Hasta hace poco tiempo, el continente Americano se encontraba libre de la enfermedad, pero en el 2004, 2005 y 2006 fue detectada en San Pablo (Brasil), Florida (Estados Unidos) y Cuba, respectivamente (Bové, 2006; United States Department of Agriculture/Animal and Plant Health Inspection Service, 2005). Actualmente la bacteria tiene una amplia distribución en el estado de San Pablo (Brasil) y ha sido detectada en Minas Gerais y Paraná (Fundecitrus, 2009) y en otras regiones del continente Americano (United States Department of Agriculture/Animal and Plant Health Inspection Service, 2009a, 2009b y 2009c; United States Department of Agriculture/Animal and Plant Health Inspection Service, 2008; Jepson, 2008).

La diseminación del HLB ocurre fundamentalmente a través de dos insectos vectores, el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama y el psílido africano de los cítricos, *Trioza erytreae* Del Guercio, ambos pertenecientes a la familia Psyllidae. *D. citri* es el vector más eficiente del patógeno, presenta una distribución geográfica amplia en Asia y América. Sin embargo, *T. erytreae* sólo se encuentra presente en el continente Africano y el suroeste de

Arabia Saudita (Aubert, 1987). La combinación de la presencia del vector y la bacteria ha sido el factor limitante en la producción cítrica de gran parte del continente asiático (Bové, 2006). *Diaphorina citri* fue reportada por primera vez en Uruguay en 1991 (Bernal, 1991).

La detección de la enfermedad en Brasil en el año 2004, junto con la fuerte dispersión que ha ocurrido en los últimos años en el estado de San Pablo y las posteriores detecciones en Minas Gerais y Paraná deben ser considerados una amenaza para la citricultura nacional. La presencia del vector aumenta la probabilidad de establecimiento y diseminación de la enfermedad en nuestro país. A pesar que el psílido se encuentra presente en Uruguay desde hace varios años son pocos los conocimientos biológicos y ecológicos en nuestras condiciones. Es así que el presente estudio se realizó de forma de obtener los primeros conocimientos sobre el vector, estableciéndose los siguientes objetivos: validación de un método de monitoreo de adultos, conocer la abundancia y fluctuación de las poblaciones y estudiar el patrón de agregación de adultos e inmaduros de *D. citri*. El trabajo se enmarcó dentro del proyecto “*Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), vector de *Candidatus Liberibacter* spp., organismo causal del ‘huanglongbing’ de los cítricos, contribución al desarrollo del manejo integrado de la plaga en Uruguay”, desarrollado por el Departamento de Protección Vegetal de la Facultad de Agronomía, el mismo fue financiado por el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Se presentan en esta publicación tres capítulos que se corresponden a cada uno de los objetivos de la tesis, el primero será publicado en la revista *Agrociencia* de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República Oriental del Uruguay.

1.1 TAXONOMÍA DE *DIAPHORINA CITRI*

Orden: Hemiptera; Suborden: Sternorrhyncha; Superfamilia: Psylloidea; Familia: Psyllidae; Subfamilia: Liviinae; Tribu: Aphalarini; Género: *Diaphorina*; Especie: *Diaphorina citri*.

Los insectos de la superfamilia Psylloidea son pequeños, las antenas presentan generalmente 10 segmentos, dos basales más robustos y los restantes más o menos alargados. Las patas posteriores son saltadoras, los tarsos son dímeros. Presentan cuatro alas membranosas, generalmente hialinas, las anteriores pueden presentar manchas más o menos

extensas. A pesar de que machos y hembras son aparentemente semejantes, es fácil reconocerlos por el aspecto de sus respectivas gonapófisis; en las hembras es puntiaguda y curvada hacia atrás, mientras que en los machos el ápice está doblado hacia arriba (Costa Lima, 1942).

Las especies de *Diaphorina* usualmente se distinguen basándose en el patrón de venación y en la forma de los conos genales. El género es caracterizado por la siguiente combinación de caracteres: antenas usualmente muy pequeñas (0,48 mm), con dos setas cortas; aedeagus con el primer segmento curvado; conos genales planos y anchos, de contorno no cónico y tan largos o más largos que anchos, ápices estrechamente redondeados o truncados; alas anchas subapicalmente, redondeadas en el ápice y estrechas en la mitad basal (European Plant Protection Organization, 2005; Halbert y Manjunath, 2004).

1.2 MORFOLOGÍA Y CICLO DE VIDA

D. citri presenta tres estados de desarrollo: huevo, cinco instares ninfales y adulto. Los adultos son insectos pequeños, de 3 a 4 mm de largo; cuerpo de color marrón amarillento, cabeza marrón clara, patas marrones grisáceas, antenas con la extremidad de color negro con dos manchas pequeñas marrón claro sobre la mitad del segmento. Las alas son transparentes con manchas de color blanco y marrón claro, presentan una banda longitudinal ancha de color beige en el centro. Los ojos son marrón oscuro. Los adultos se alimentan con la cabeza tocando la superficie del vegetal y el cuerpo formando un ángulo de 45° con respecto a la horizontal. Pueden volar o saltar cortas distancias cuando se los disturba (Grafton-Cardwell *et al.*, 2006; European Plant Protection Organization, 2005; Mead, 1977).

Los huevos son elongados, en forma de almendra, más anchos en la base. La coloración es pálida al principio, luego se torna amarilla y finalmente anaranjada cerca de la emergencia de las ninfas, son colocados sobre el tejido vegetal con el eje longitudinal dispuesto verticalmente en relación a la superficie. Las hembras colocan los huevos exclusivamente sobre la extremidad de brotes en crecimiento y yemas axilares (Grafton-Cardwell *et al.*, 2006; European Plant Protection Organization, 2005; Mead, 1977).

Las ninfas de primer instar miden 0,25 mm de longitud y las de quinto instar alcanzan 1,5 a 1,7 mm, su coloración es generalmente amarilla anaranjada a marrón claro, con grandes tecas alares y filamentos largos en la parte final del abdomen.

Las ninfas de segundo instar tienen tecas alares desarrolladas y separadas, el margen del abdomen con siete a ocho pares de setas, el largo del cuerpo es de 0,49 a 0,72 mm. Las de tercer instar presentan tecas alares desarrolladas y parcialmente superpuestas, el margen del abdomen con 15 a 17 pares de setas, el largo del cuerpo es de 0,69 a 0,72 mm. Las de cuarto instar son de coloración amarillo con tonos marrones, con antenas de tres segmentos, el margen del abdomen con 27 a 30 pares de setas, largo del cuerpo es de 0,98 a 1,05 mm. Las ninfas de último instar tienen el cuerpo oval, cerca de 1,2 veces más largo que ancho, coloración amarilla a marrón amarillenta, presentan el tercer antenito de color negro, el margen del abdomen con 25 a 29 pares de setas (Figura 1) (European Plant Protection Organization, 2005; Mead, 1977). Los instares ninfales se alimentan exclusivamente sobre brotes en crecimiento. Pueden moverse cuando se las perturba pero normalmente son sedentarias y viven en grupos (Grafton-Cardwell *et al.*, 2006; Mead, 1977).

1.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y PLANTAS HOSPEDANTES

D. citri se distribuye ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales de Asia (Mead, 1977). En América la primera cita del insecto fue en Brasil (Costa Lima, 1942), posteriormente en 1984 se encontró en Entre Ríos, Argentina (Vaccaro citado por Augier *et al.*, 2006). En Uruguay, se detecta en 1991 en el departamento de Salto (Bernal, 1991). En 1998 fue reportada en Florida (EEUU) (Liu y Tsai, 2000), en 1999 en Venezuela (Cermeli, 2000). Durante 2001 fue encontrada en Cuba, República Dominicana (Halbert y Núñez, 2004), Puerto Rico (Pluke *et al.*, 2008) y Texas (EEUU) (French *et al.*, 2001). En 2008 fue informada la presencia del insecto en otras regiones de Estados Unidos, Alabama, Louisiana, Texas, Georgia, Mississippi, Carolina del Sur, y en 2009 en California. Ese mismo año fue también detectada en Arizona y en abril de 2010 se verificó la presencia en las Islas Vírgenes (United States Department Agriculture/Animal Plant Health Inspection Service, 2010a y 2010b).

El rango de hospedantes de *D. citri* está limitado a plantas de la familia Rutaceae. Halbert y Manjunath (2004) presentan una lista con 51 especies de plantas hospedantes, además mencionan que *Murraya paniculata* es el hospedante preferido del insecto. Sin embargo, no en todas las plantas reportados podría completar el desarrollo (Aubert, 1987).



Figura 1. A, huevos; B, C y D, ninfas; E, ninfa de último estadio y F, adulto de *D. citri*.

1.4 DAÑOS E IMPORTANCIA ECONÓMICA^F

Diaphorina citri puede causar daños directos e indirectos. Los psílidos extraen una gran cantidad de savia de la planta produciendo una copiosa cantidad de mielcilla. La mielcilla se vuelca sobre hojas y sobre ésta se desarrolla fumagina. Además, cuando se alimentan inyectan al vegetal toxinas que detienen la elongación terminal y causan malformaciones de hojas y brotes. En infestaciones severas pueden provocar la muerte de brotes o causar la abscisión de hojas (Michaud, 2004). Los árboles adultos pueden ser tolerantes a estos daños debido a que la pérdida de hojas y brotes es tan sólo una pequeña porción del follaje total. En plantas jóvenes los

daños podrían ser de mayor relevancia dependiendo de la intensidad de infestación, por lo que podrían requerirse medidas de control (Grafton-Cardwell *et al.*, 2006).

El daño indirecto es el de mayor severidad y relevancia, este insecto es un eficiente vector de las bacterias asociadas al HLB, conocidas como *Candidatus Liberibacter* spp. (Grafton-Cardwell *et al.*, 2006). En el pasado, esta bacteria había sido extremadamente difícil de detectar y caracterizar. En la década de los '90 a través de técnicas moleculares basadas en ADN se confirmó que la bacteria era una alpha protobacteria gram negativa, y se la nombró "*Candidatus Liberibacter*". *Candidatus* indica que la bacteria no puede cultivarse y sólo ha sido caracterizada molecularmente (Jagoueix *et al.*, 1994). El patógeno se localiza exclusivamente en los vasos floemáticos. A pesar de lo intentos, la bacteria causante de la enfermedad no ha podido ser cultivada en medio artificial con éxito (Bové, 2006), aunque recientes estudios indicarían que existen buenas perspectivas en el tema (Sechler *et al.*, 2009).

Hasta el 2004 se habían identificado dos especies dentro del género *Ca. Liberibacter*: *Ca. Liberibacter africanus* en África y *Ca. Liberibacter asiaticus* en Asia. En marzo de 2004 se identificaron síntomas de la enfermedad en las proximidades de la ciudad de Araraquara en el estado de San Pablo, Brasil (Texeira *et al.*, 2005; Coletta-Filho *et al.*, 2004). Ese mismo año fue constatada la presencia de una tercer especie, *Candidatus Liberibacter americanus*. Durante el período 2004-2005 más del 95% de las plantas afectadas por HLB en San Pablo estaban infectadas con *Ca. L. americanus* y el resto con *Ca. L. asiaticus*. Se demostró que *D. citri* podía transmitir ambas especies (Yamamoto *et al.*, 2006). Posteriormente, el porcentaje de plantas afectadas por *Ca. L. americanus* ha descendido, mientras que han aumentado las plantas infectadas por *Ca. L. asiaticus*. Las primeras observaciones de los daños producidos por la bacteria en cítricos de Brasil mostraron reducciones del 70 % en la producción de fruta, en plantas de entre cuatro y seis años de edad con más del 60 % del follaje mostrando síntomas de la enfermedad. La reducción en la producción fue directamente proporcional al área de follaje con síntomas (Bassanezi *et al.*, 2006).

Los síntomas de la enfermedad son muy variables. En hojas se observa un moteado difuso, constituido por pequeñas manchas verde claro o amarillas, algunas veces los síntomas cloróticos son limitados por las nervaduras. También se observa un engrosamiento de las nervaduras

foliares, presentando un aspecto corchoso. En frutos se observan deformaciones, caída prematura, tamaño reducido, inversión de la maduración, semillas abortadas, haces vasculares amarronados (Fundecitrus, 2004).

1.5 BIOLOGÍA

La temperatura es uno de los factores abióticos que afecta más a los insectos. Estudios realizados para conocer el efecto de la temperatura sobre *D. citri* encontraron que a 28 °C el período embrional transcurre en promedio en 3,5 días, mientras que a 15 °C la duración fue de 10 días (Liu y Tsai, 2000). Catling (1970) encontró una duración promedio de 3 días entre 25-26 °C. El desarrollo ninfal se completa entre 10 y 40 días a 28 y 15 °C, respectivamente (Liu y Tsai, 2000). En general, altas temperaturas (>30 °C) no son favorables para el desarrollo de las ninfas (Liu y Tsai, 2000). La duración del ciclo total (huevo-adulto) varió entre 44 y 12 días a 18 °C y 32 °C, respectivamente (Nava *et al.*, 2007). A 15 °C *D. citri* requiere 49 días para completar el desarrollo de huevo a adulto y solamente 14 días a 28 °C (Liu y Tsai, 2000).

En relación a la supervivencia, Liu y Tsai (2000) encontraron que bajas (<20 °C) y altas temperaturas (>28 °C) causaron una disminución en la supervivencia de huevos. Sin embargo, Nava *et al.* (2007) no encontraron diferencias significativas en la supervivencia de huevos entre 18 y 32 °C. En relación a la viabilidad de las ninfas, ésta fue afectada por la temperatura, Nava *et al.* (2007) encontraron que a 32 °C la supervivencia fue tan sólo de 7%. Asimismo, Liu y Tsai (2000) mencionan que temperaturas inferiores a 10 °C y superiores a 33 °C no permiten completar el desarrollo de las ninfas.

En relación a la longevidad de las hembras Liu y Tsai (2000) encontraron incrementos de la misma con disminuciones de la temperatura, a 15 °C la longevidad promedio fue de 88 días. Los machos a 24 °C viven en promedio entre 21 y 25 días, mientras que las hembras 31 días. En general, las hembras son más longevas que los machos (Nava *et al.*, 2007). En China los adultos invernantes, especialmente las hembras, presentan una mayor longevidad que individuos de otras generaciones, llegando a vivir entre ocho y nueve meses (Yang *et al.*, 2006).

Otra característica de los adultos es la tolerancia al frío, son capaces de sobrevivir a temperaturas de -18 °C por 10 minutos, y temperaturas entre -4 °C y -12 °C por cuatro horas (Yang *et al.*, 2006).

La fecundidad de las hembras es máxima a 28 °C, mientras que fue observada una rápida disminución de la misma cuando la temperatura se incrementó de 28 a 33 °C (Liu y Tsai, 2000).

La planta hospedante influencia la biología del insecto, Liu y Tsai (2000) encontraron que el tiempo de desarrollo del período ninfal fue significativamente menor sobre *Citrus paradisi* y *Murraya paniculata* que sobre *Citrus jambhiri* y *Citrus aurantium*. Sin embargo, Nava *et al.* (2007) no encontraron efecto de la planta hospedante sobre la duración de los estados inmaduros. Sin embargo, estos autores encontraron diferencias en la fecundidad de hembras criadas sobre distintos hospedantes. A 24 °C el número promedio de huevos por hembra fue 348, 265 y 166 sobre *Murraya paniculata*, *Citrus limonia* y *Citrus punki*, respectivamente. La planta hospedante no afectó la longevidad de los adultos (Nava *et al.*, 2007).

El apareamiento de los adultos ocurre casi exclusivamente sobre brotes en crecimiento y predominantemente durante la fotofase. La madurez reproductiva de ambos sexos se alcanza dos o tres días después de la emergencia de los adultos, y la oviposición se inicia alrededor de uno a dos días después del apareamiento (Wenninger y Hall, 2007). Los machos y hembras se encuentran unos a los otros para aparearse a través de vibraciones, en adición, existe evidencia que indicaría que las hembras emiten una feromona sexual, aunque no ha sido identificada hasta el momento (Wenninger y Hall, 2008a y 2009). Ambos sexos se aparean múltiples veces con distintos compañeros (Wenninger y Hall, 2008b). El color abdominal de los adultos puede exhibir tres variantes: gris/marrón, azul/verde y anaranjado/amarillo. Esta variación en el color no es de utilidad para discernir el estado de madurez sexual y sólo tiene un valor limitado para diferenciar cuales hembras se han apareado (Wenninger y Hall, 2008c).

Las hembras oviponen sólo sobre brotes en crecimiento; los huevos son depositados sobre el cérvix de yemas, hojas y ramitas jóvenes, y en las axilas foliares (Mead, 1977). En estudios de laboratorio reportados por Chen y Liao citados por Yang *et al.* (2006) el pico de oviposición fue registrado cuando los brotes de plantas en macetas alcanzaron 5 a 50 mm de longitud. En el campo, el pico se observó cuando los brotes alcanzaron 5 mm de largo (Sun citado por Yang *et*

al.2006). La densidad de huevos es mayor sobre la primera hoja del brote y disminuye en las subsiguientes (Xu *et al.* citados por Yang *et al.* 2006). Las hembras realizan posturas normalmente en ambientes con temperaturas por encima de 20 °C, pero no lo hacen por debajo de 15 °C (Wu citado por Yang *et al.* 2006).

1.6 FLUCTUACIÓN DE POBLACIONES

La fluctuación de poblaciones de *D. citri* sobre cítricos y otras plantas hospedantes está relacionada con la disponibilidad de brotes, debido a que huevos y ninfas se desarrollan sobre los mismos (Arredondo, 2009; Quereshi *et al.*, 2009; Pluke *et al.*, 2008; Fernández y Miranda, 2005; Tsai *et al.*, 2002, Wang, 1981; Catling, 1970).

Las condiciones climáticas también afectan la abundancia de las poblaciones. La temperatura es uno de los factores abióticos más importantes, el óptimo para el crecimiento poblacional se encuentra entre 25 y 28 °C (Liu y Tsai, 2000). Otros factores que influyen en la abundancia son la humedad relativa y las precipitaciones (McFarland y Hoy, 2001; Aubert, 1987). McFarland y Hoy (2001) encontraron que la supervivencia fue mayor con aumentos en la humedad relativa. Sin embargo, podría sobrevivir a humedades relativas de 7 y 33%, sugiriendo que podría subsistir en condiciones más áridas. Las lluvias intensas pueden provocar el arrastre de ninfas, provocando mortalidad en las poblaciones (Aubert, 1987). En Florida (EEUU) las poblaciones de inmaduros son más abundantes durante el verano. Sin embargo, se señala que las poblaciones pueden aumentar en cualquier momento del año dependiendo de las condiciones climáticas y la disponibilidad de brotes (Hall *et al.*, 2008). En la región norte del Estado de San Pablo (Brasil) se observa una mayor abundancia de *D. citri* entre fin de primavera e inicio de verano. Durante el otoño e invierno las poblaciones de adultos se mantienen bajas (Yamamoto *et al.*, 2001).

Los enemigos naturales son el factor biótico más importante afectando las poblaciones del psílido (Quereshi y Stansly, 2009). Entre los enemigos naturales del insecto se incluyen sírfidos, crisopas, al menos 12 especies de coccinélidos y varias especies de chalcidoideos; entre los cuales el más importante es el ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae)

(Mead, 1977). Los hongos entomopatógenos son considerados como factores de mortalidad importantes en algunas regiones del mundo (Rivero y Grillo citados por Meyer *et al.*, 2007; Subandiyah *et al.* citados por Meyer *et al.*, 2007; Étienne *et al.*, 2001; Aubert, 1987). Los predadores también actúan sobre las poblaciones de *D. citri*, numerosas especies han sido citadas alimentándose del insecto, y en algunas regiones son considerados como los agentes de control biológico natural más importantes de la plaga (Michaud, 2004; Gravena *et al.* citados por Halbert y Manjunath, 2004).

1.7 ESTIMACIÓN DE LAS POBLACIONES

Los estimadores de las poblaciones de insectos comúnmente utilizados son los absolutos y los relativos. Los métodos absolutos estiman la densidad de las poblaciones como el número total de individuos por unidad de hábitat (hoja, fruto, rama, árbol, etc.) o por unidad de superficie (m², hectárea, etc.) Mientras que los estimadores relativos son aquellos que se expresan en unidades que no son extrapolables, por lo que sólo permiten realizar comparaciones en el tiempo o en el espacio, sin que se pretenda con su uso hacer inferencias en relación a la población total. Se expresan como número de individuos por unidades de muestreo, pudiendo ser éstas trampas, mallas, lapsos de tiempo, etc. (Southwood y Henderson, 2000).

El golpeo o “beating” es básicamente un método relativo de estimación de las poblaciones, pero para algunos insectos, poco móviles, que tienden a caer antes de volar cuando se lo perturba, una proporción importante de la población total podría ser colectada y de esta forma puede ser considerado como un método absoluto. El clima, la fuerza con que se aplica el golpe sobre la planta, la hora del día pueden influir sobre la eficiencia del método (Southwood y Henderson, 2000).

El conteo directo de huevos, ninfas y adultos sobre brotes, y de adultos en hojas maduras es utilizado para estimar las poblaciones de *D. citri*. Así como el golpeo de ramas y las trampas adhesivas amarillas, éstas últimas utilizadas ampliamente en el mundo para el monitoreo de los adultos del vector (Hall *et al.*, 2008; Hall *et al.*, 2007).

Las trampas de color amarillo han sido reportadas como las de mayor eficacia en la captura de adultos del psílido (Hall *et al.*, 2007; Aubert y Hua, 1990; Aubert y Quilici, 1988). Además, han sido utilizadas para estudiar la fenología de *D. citri* (Hall et al 2008) y fueron evaluadas como indicador de las poblaciones absolutas de adultos del psílido en la planta (Hall, 2009).

1.8 AGREGACIÓN DE LAS POBLACIONES

La distribución espacial de las poblaciones es una de las características ecológicas más importantes que es indispensable conocer si se desea muestrearlas eficientemente (Davis, 1994; Taylor, 1984). Los tipos de distribución espacial de las poblaciones han sido clasificadas en: aleatoria, agregada y uniforme. Una población tendrá una distribución aleatoria cuando cualquier lugar del espacio tiene la misma probabilidad de ser ocupado por un individuo de la población, sin que esta ocupación afecte la ubicación de otros individuos pertenecientes a la misma población. Este tipo de distribución se caracteriza porque la media (m) es igual a la varianza (S^2) (Southwood y Henderson, 2000).

En estudios ecológicos la distribución más común es la agregada, en este tipo de distribución la presencia de un individuo genera una mayor probabilidad de encontrar en las cercanías otros de la misma población, por lo que la media tiende a ser menor que la varianza (Southwood y Henderson, 2000). Las distribuciones agregadas pueden ser el resultado de factores bióticos y abióticos. Algunos de los factores que pueden influir son: comportamiento al oviponer; respuesta a factores climáticos, como temperatura, humedad, viento, luz, precipitaciones y factores edáficos; respuesta a feromonas y etología de la copulación, atracción por sonidos, lugares de diapausa; parasitismo y depredación (Cadahia, 1977). Cuando los individuos son encontrados siguiendo un patrón regular la distribución es uniforme. En este caso la media de las muestras es mayor que la varianza (Southwood y Henderson, 2000).

Varios autores han encontrado que las poblaciones de inmaduros y adultos de *D. citri* se distribuyen de forma agregada (Sétamou *et al.*, 2008; Soemargono *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2000; Wang, 1981). Según Sétamou *et al.* (2008) el comportamiento agregativo del psílido asiático de los cítricos tiene relación con la preferencia de éste por alimentarse, oviponer y desarrollarse en

brotos en crecimiento, así como la oviposición en grupos y el comportamiento sedentario de las ninfas.

En relación a la distribución del vector dentro de la planta Soemargano *et al.*(2008) no encontraron diferencias entre puntos cardinales. Sin embargo, Sétamou *et al.*(2008) reportan que la abundancia de ninfas varió entre puntos cardinales. También, existe evidencia que indicaría que en la parte superior de los árboles las poblaciones del insecto son mayores (Soemargono *et al.*, 2008).

2. EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE MONITOREO DE ADULTOS DE *DIAPHORINA CITRI* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)¹

2.1 RESUMEN

Diaphorina citri es vector de las bacterias asociadas al Huanglongbing, ésta es la enfermedad más destructiva de los cítricos en el mundo. En Uruguay el psílido fue reportado por primera vez en 1991. El HLB no ha sido descubierto hasta el momento, sin embargo la presencia del vector en el país aumenta la probabilidad de establecimiento y diseminación de la enfermedad. El uso de métodos de monitoreo adecuados para detectar la presencia, determinar la fluctuación y abundancia de las poblaciones de psílido es un tema central en el manejo de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de tres métodos de monitoreo de adultos de *D. citri*. Se seleccionaron dos sitios ubicados en predios comerciales de Paysandú y Salto. Los métodos evaluados fueron trampas adhesivas amarillas, golpeo e inspección de ramas. Se seleccionaron 25 árboles por sitio, en cada planta fue colocada una trampa adhesiva amarilla y en los mismos árboles fue escogida al azar una rama por cuadrante, donde se contabilizó el número de adultos usando el método de inspección. Posteriormente, fue colocada por debajo de cada rama una bandeja blanca engomada y fueron golpeadas tres veces, todos los adultos caídos en la bandeja fueron contados. El golpeo de ramas estimó mejor la abundancia de los adultos y detectó una mayor proporción de árboles infestados con el psílido. Todos los métodos de monitoreo mostraron de forma similar el crecimiento y fluctuación de las poblaciones, aunque las trampas no fueron útiles en estimar la abundancia durante el otoño. Se encontró correlación significativa entre el número de adultos acumulados por trampa y los otros métodos. El golpeo fue más eficaz en detectar áreas en la parcela con mayor abundancia de adultos.

Palabras claves: golpeo, inspección, psílido asiático de los cítricos, trampas adhesivas amarillas

¹ Este capítulo está escrito siguiendo las indicaciones para autores de la Revista Agrociencia de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República Oriental del Uruguay

Evaluations Three Sampling Monitoring For *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) Adults

2.2 SUMMARY

Diaphorina citri is vector of the associated bacterias to Huanglongbing, it is the most destructive citrus disease in the world. In Uruguay the psyllid was reported for first time in 1991. HLB has not been discovered yet, however the presence of the vector in the country increase the bacterial probability of establishment and dissemination. The use of monitoring methods to detect, to determine the psyllid populations fluctuation and abundance is a central issue for disease management. The objective of this research was to evaluate the efficiency of three sampling methods of *D. citri* adults. Two citrus orchards were selected in commercial groves located in Paysandú and Salto. The samplings methods evaluated were yellow sticky cards, stem-tap sampling and visual inspection. Twenty-five trees were selected per orchard, in each plant was collocated a yellow sticky card trap, in the same trees a random branch was chosen per quadrant, where was counted the number of adults used the inspection method. Subsequently, was collocated a sticky white pan under each branch and were tap three times, all adults falling in the pan were counted. The stem-tap sampling estimated better the abundance of adults and detected a greater proportion of infested trees with the psyllid. All methods showed in similar manner the growth and fluctuation of the psyllid population, although yellow sticky traps were not useful for estimated the abundance during autumn. Significant correlation was founded between the number of adults per trap and the others two methods. The stem- tap sampling was more effective in detected areas in the orchard with more adults abundance.

Keywords: stem- tap sampling, visual inspection, Asian citrus psyllid, yellow sticky traps

2.3 INTRODUCCIÓN

Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) fue reportada por primera vez en Uruguay en 1991 (Bernal, 1991), posteriormente se confirma su presencia en los departamentos de Salto y Paysandú (Asplanato *et al.*, 2011). Este insecto es vector de *Candidatus Liberibacter* spp., bacterias asociadas a la enfermedad más destructiva que afecta a los cítricos, llamada “Huanglongbing” o HLB (Bové, 2006; Halbert y Manjunath, 2004). En el continente americano HLB fue detectado por primera vez en el año 2004 en Brasil (San Pablo) (Texeira *et al.*, 2005), y en 2005 se reporta su presencia en Florida (Estados Unidos) (Halbert, 2005). Posteriormente la dispersión de la enfermedad fue extremadamente rápida, encontrándose en varios países del Caribe, Centro y Norte del continente americano (Graça, 2010). En Uruguay la enfermedad no ha sido descubierta hasta el momento, pero la presencia del vector aumenta la probabilidad de establecimiento y diseminación del patógeno.

Los métodos de monitoreo utilizados para el psílido son las trampas adhesivas amarillas, el golpeo de ramas y la inspección de hojas maduras y brotes (Hall *et al.*, 2010; Hall y Hentz, 2010; Hall, 2009; Hall *et al.*, 2008; Hall *et al.*, 2007; Aubert y Hua, 1990; Aubert y Quilici, 1988). Las trampas de color amarillo son utilizadas para el monitoreo de otros insectos, entre ellos: moscas blancas, trips, parasitoides himenópteros de cochinillas, etc (Brodsgaard, 2009; Heinz *et al.*, 1992; Gillespiei y Vernonz, 1990; Gillespiei y Quiring, 1987; Samways, 1986). En Uruguay se encontró que las trampas no detectaron la presencia de adultos de *D. citri* en árboles donde el golpeo y la inspección de ramas si lo hicieron (Rubio *et al.*, 2009). El golpeo de ramas es fácil de implementar, presenta buena capacidad para detectar árboles infestados y es un buen estimador de la abundancia de los adultos de *D. citri* en las plantas (Hall *et al.*, 2007). El conteo directo de adultos en brotes y hojas maduras (inspección) es utilizado con buenos resultados, aunque requiere de mayor tiempo para ser implementado (Hall, 2009; Hall *et al.*, 2008).

La evaluación de métodos de monitoreo de adultos de *D. citri* es de vital importancia en áreas donde el riesgo de introducción y establecimiento del HLB es alto. La selección de métodos simples, fáciles de implementar, con capacidad de detectar la presencia y estimar la abundancia de las poblaciones del psílido es esencial para llevar adelante programas de manejo integrado de

la enfermedad y su vector. El objetivo del presente trabajo es evaluar y comparar la eficiencia de las trampas adhesivas amarillas, el golpeo y la inspección de ramas en el monitoreo de los adultos de *D. citri*, de forma de obtener información que sea útil para el desarrollo de estrategias de manejo del HLB, ante una posible introducción y establecimiento del patógeno en el Uruguay.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado en dos sitios ubicados en predios comerciales de la zona norte de Uruguay. Una de las parcelas consistía en naranjos 'Washington Navel' implantados en 1998 en la zona de Quebracho (departamento de Paysandú). El área de estudio fue de 0,8 ha, la distancia de plantación era 6,5 x 3,5 m, las filas se orientaban de este a oeste y presentaba riego por goteo. La otra parcela se localizó en Itapebí (departamento de Salto), consistía en plantas de tanger 'Ortanique' implantadas en 1996. La superficie de estudio fue 0,9 ha, con una distancia de plantación de 6 x 3 m, las filas tenían una disposición norte a sur y no tenía riego. Las parcelas fueron seleccionadas por presentar poblaciones elevadas de *D. citri* en temporadas anteriores. En ambos sitios se realizaron los manejos convencionales para cada empresa en relación a podas, fertilizaciones y aplicación de funguicidas. No fueron efectuadas aplicaciones con insecticidas durante el transcurso del estudio.

El período de estudio transcurrió desde agosto de 2008 hasta junio de 2009, con una frecuencia de muestreo quincenal. En cada parcela se seleccionaron 25 árboles, se escogieron cinco plantas por fila, equidistantes entre sí, en filas alternadas. Se colocó una trampa adhesiva amarilla por planta. Las dimensiones de las trampas eran 0,15 x 0,12 m, de color amarillo cromo, referenciado por el sistema L*a*b con valores L: 80,71; a: +4,35 y b: +81,80 (Comisión International de l'Eclairage, 1976). Sobre una de las caras se aplicó una capa fina de adhesivo permanente (Quemar S.R.L- Súsbin™). Las trampas se ubicaron verticalmente en la parte más externa de la copa de los árboles, a 1,5 m de altura sobre el nivel del suelo, dirigiendo la cara con pegamento hacia la entrefila, orientadas hacia el este en Itapebí y hacia el norte en Quebracho. En cada fecha de muestreo se contabilizó el número de adultos capturados por trampa.

En los mismos árboles donde se colocaron las trampas fue seleccionada al azar una rama por cuadrante, las ramas escogidas se encontraban entre 1 y 2 m por encima del nivel del suelo. Sin realizar disturbios sobre las ramas se contabilizó el número de adultos posados en ellas. Esa misma rama fue golpeada tres veces, colocando debajo una plancha engomada de 0,20 x 0,20 m. Se registró el número de adultos observados por rama para los dos métodos. Los muestreos fueron realizados entre las 9 AM y 12 AM en Quebracho, y entre las 14 PM y 17 PM en la parcela localizada en Itapebí.

La comparación de los métodos de monitoreo se realizó evaluando la abundancia y fluctuación de poblaciones, la proporción de árboles infestados con adultos y la capacidad de los métodos en detectar focos en las parcelas.

Se estimaron las medias e intervalos de 95% de confianza del número de adultos acumulados por árbol y método de monitoreo de forma de comparar las estimaciones de la abundancia de los métodos. Se utilizó un Modelo Lineal Generalizado asumiendo distribución Poisson con función de enlace log, se empleó el procedimiento GLIMMIX (SAS, 2007). Se analizó la asociación entre las capturas en trampas y los otros dos métodos. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson y Spearman entre el número de adultos totales por trampa para el período de estudio y el número de adultos totales por árbol para los métodos de golpeo y la inspección de ramas. Se utilizó el paquete estadístico Infostat para el cálculo de los coeficientes y su significancia (Di Rienzo *et al.*, 2010).

La fluctuación de las poblaciones fue analizada a través de modelos de crecimiento poblacional, empleando el procedimiento NLIN (SAS, 2007), considerando por separado los datos provenientes de cada tipo de monitoreo y sitio de muestreo. Se calculó la proporción acumulada del número de adultos registrados para cada método en función del tiempo. Se estimaron los parámetros de las curvas sigmoides (modelo logístico), los intervalos de confianza para cada uno de ellos y el momento en que las poblaciones alcanzaron el 50% (punto de máxima velocidad de crecimiento). El modelo logístico se define como: $y = b_0 / (1 + b_1 e^{-b_2 t})$ donde; y es la proporción acumulada de insectos, t es el tiempo de días transcurridos a partir del inicio de los muestreos (14/8/09), b_0 es el valor asintótico, b_1 es un parámetro asociado al intercepto y depende de la escala de medición y b_2 es la tasa de crecimiento de la población.

Para evaluar la capacidad de los métodos en detectar árboles infestados por adultos se calculó la proporción de árboles donde se detectó la presencia de adultos para cada método en cada fecha de muestreo. Se empleó un Modelo Lineal Generalizado donde se asumió distribución binomial con función de enlace logit, utilizando el procedimiento GENMOD (SAS, 2007).

Para determinar la eficiencia de los métodos en identificar focos en las parcelas se calculó el número de adultos acumulados por árbol para cada método en distintos períodos de tiempo. Los períodos de tiempo se definieron en función de la presencia/ausencia de brotes en las plantas. En Itapebí se determinaron cuatro períodos, los primeros tres se correspondieron a tres brotaciones registradas entre; el 14 de agosto y el 22 de setiembre de 2008, el nueve de octubre y 19 de diciembre de 2008, el dos de enero y el 19 de marzo de 2009. Por último se estableció un cuarto período, desde el 27 de marzo hasta el 19 de junio de 2009 donde no fueron observados brotes. En Quebracho la brotación fue más continua durante el periodo de estudio, probablemente debido a la presencia de riego. Se establecieron tres períodos, todos con presencia de brotes, éstos fueron: entre el 14 de agosto al cinco de noviembre de 2008, dos de enero al 13 de marzo de 2009 y 26 de marzo al 19 de junio de 2009. Se construyeron los mapas de capturas acumuladas por árbol para cada período de tiempo, método de monitoreo y sitio de muestreo utilizando el programa Surfer Demo Version 9 (Golden Software Inc., 2009).

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La abundancia de las poblaciones de adultos varió significativamente entre los sitios de muestreo. En Itapebí las poblaciones fueron mayores, lo cual fue constatado por los tres métodos de monitoreo (Cuadro 1). Las densidades medias durante la temporada de estudio en Itapebí fueron 3,03 adultos por rama para el golpeo, 0,48 adultos por rama para la inspección y las capturas promedio por trampa fueron 0,25 adultos. En Quebracho el número promedio de adultos por rama para el golpeo fue 0,06 y para la inspección fue 0,02. En trampas el número promedio de adultos 0,005.

En Itapebí el golpeo registró un número significativamente mayor de adultos comparado con la inspección de ramas. Sin embargo, en Quebracho no fueron encontradas diferencias

significativas entre los métodos, probablemente por las bajas poblaciones del psílido en este sitio. En el caso de las trampas, no es posible comparar las estimaciones de abundancia con los otros dos métodos, fundamentalmente debido a que la escala de muestreo es distinta.

Cuadro 1. Medias e intervalos de confianza de 95% del número de adultos acumulados por trampa adhesiva amarilla y número de adultos acumulados por árbol para los métodos de golpeo e inspección de ramas.

Sitio	Trampas			Inspección			Golpeo		
	media	Li	Ls	media	Li	Ls	media	Li	Ls
Itapebí	77,1	43,4	137,0	40,3	30,3	53,6	254,1	188,8	341,9
Quebracho	1,3	0,01	111,3	1,6	0,4	6,7	5,1	0,6	41,5

Las capturas totales por trampa durante el período de estudio variaron entre 0 y 732 en Itapebí, y en la situación de Quebracho entre 0 y 5. El número de adultos totales por árbol para el golpeo varió entre 18 y 1088, y entre 1 y 29, en Itapebí y Quebracho, respectivamente. Para la inspección de ramas los valores fueron 0 y 152 para Itapebí, mientras que para Quebracho variaron entre 0 y 8.

La asociación entre el número de adultos registrados por los métodos de golpeo e inspección de ramas y el número de adultos capturados por trampa mostró una correlación significativa cuando se aplicaron los coeficientes de Pearson y Spearman (Cuadro 2), a excepción de la correlación entre las capturas en trampas y los conteos por árbol de la inspección en el sitio de Quebracho. Se observó una tendencia en la que árboles con mayores conteos de adultos también mostraron las mayores capturas en trampas. Para otro psílido, *Cacopsylla pyricola*, las capturas en trampas fueron correlacionadas positivamente con los conteos del insecto en la planta (Horton y Lewis, 1997).

Cuadro 2. Correlación entre el número de adultos acumulados por árbol (golpeo e inspección de ramas) y el número de adultos acumulados por trampa.

Sitio	Método	Pearson	p valor	Spearman	p valor
Itapebí	Golpeo	0,83	$3,2 \times 10^{-7}$	0,89	$1,4 \times 10^{-5}$
	Inspección	0,80	$1,3 \times 10^{-6}$	0,81	$6,7 \times 10^{-5}$
Quebracho	Golpeo	0,63	$7,5 \times 10^{-4}$	0,61	$2,6 \times 10^{-3}$
	Inspección	0,57	3×10^{-3}	0,30	0,14 ^{NS}

^{NS}. No significativo.

En Itapebí, donde se observó la mayor abundancia, los coeficientes de correlación también fueron mayores a los estimados para Quebracho, donde las poblaciones fueron muy bajas. Lo anterior, indicaría que en condiciones de altas poblaciones las trampas podrían ser útiles para estimar la abundancia de los adultos. Mientras que con bajas poblaciones las capturas en trampas no serían adecuadas para evaluar la abundancia, por lo que sería conveniente complementarlas con el golpeo de ramas.

En general en ambos sitios los métodos de monitoreo mostraron una tendencia similar en la fluctuación estacional de los adultos durante la mayor parte del período de estudio. El pico poblacional se registró en ambos sitios durante fin de verano (Figura 2 A y B). En Quebracho, con bajas poblaciones se observó una tendencia similar entre los conteos del golpeo de ramas y la inspección de ramas. En la situación de las trampas las capturas fueron extremadamente bajas lo que impidió observar una tendencia clara. En Itapebí, los tres métodos mostraron tendencias similares, a partir de la última brotación se registró una disminución en los conteos y capturas de los tres métodos, aunque esta disminución fue mayor en el caso de las trampas.

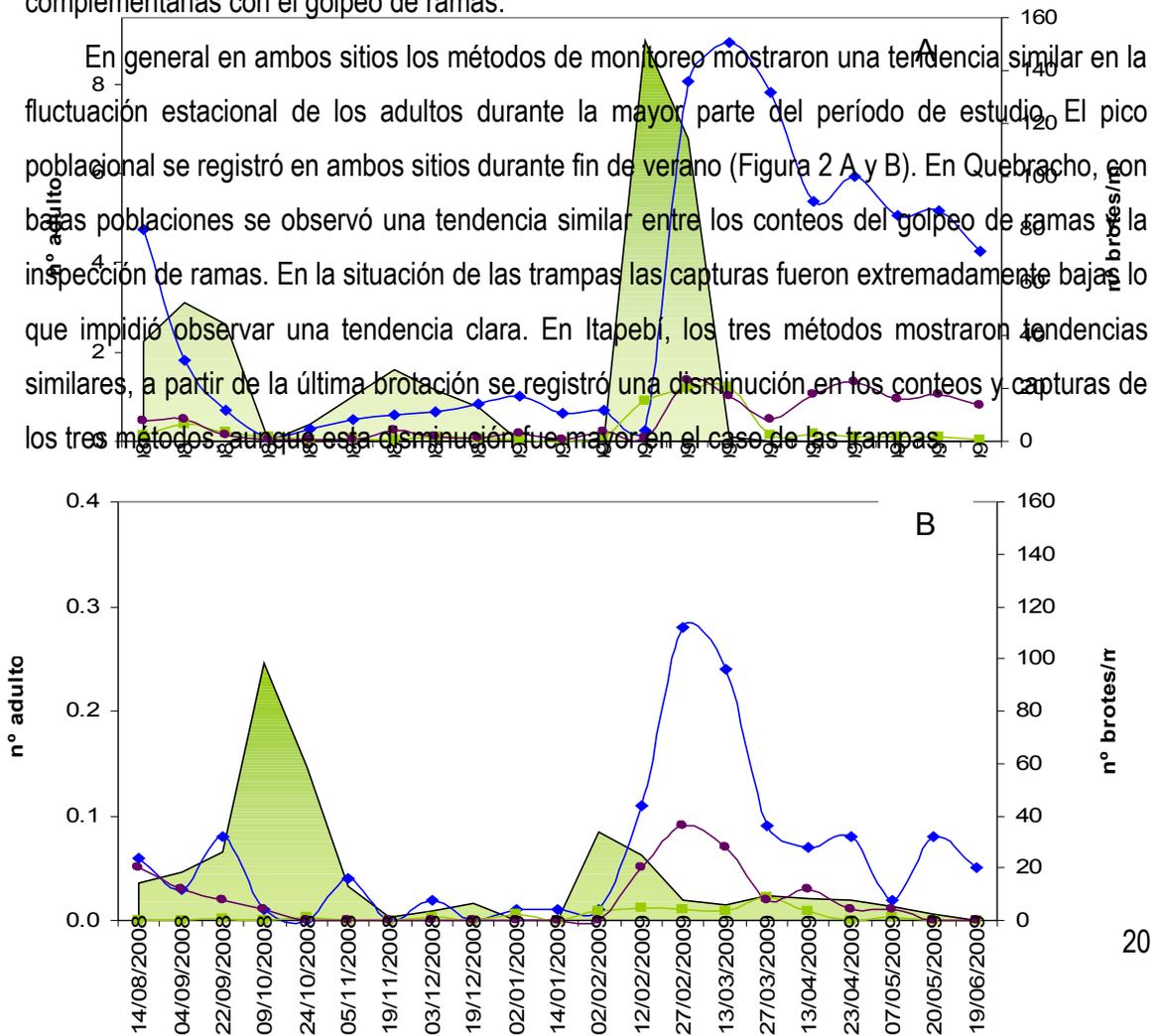


Figura 2. Fluctuación de las poblaciones de adultos de *D. citri* medidos como el número de insectos por trampa y día, número de insectos por rama para el método de golpeo e inspección de ramas, e intensidad de brotación evaluado como el número promedio de brotes por m² y fecha de muestreo. Itapebí (A) y Quebracho (B).

Las diferencias en los conteos en planta (golpeo y la inspección de ramas) y las capturas en trampas podrían explicarse por el efecto de distintos factores bióticos y abióticos en las poblaciones del vector. En el caso de las trampas son diversos los factores que podrían influenciar las capturas, reduciendo de esta forma el valor del método como estimador de la abundancia. El psílido posee una limitada capacidad de vuelo y se menciona que la dispersión

ocurre a través de la asistencia del viento (Knapp *et al.*, 2006). Boina *et al.* (2009) señalan que *D. citri* se moviliza bidireccionalmente desde parcelas con manejo hacia parcelas sin manejo, distanciadas entre sí entre 60 y 100 m. Kobori *et al.* (2011) encontraron que una vez que los adultos localizan la planta hospedante tienden a mantenerse por largos períodos sobre ésta, movilizándose en promedio entre 5 y 12 m. También se menciona que la presencia de brotes en los hospedantes podría regular la actividad de los adultos de *D. citri* y de esa forma afectar las capturas (Chavan y Summanawar 1993; Catling, 1972; Catling, 1970). Los brotes en crecimiento liberan compuestos volátiles que actúan como atrayentes para el psílido, es así que la brotación podría estimular el movimiento de los adultos (Patt y Sétamou, 2010). Por otra parte, Hall *et al.* (2010) señalan que la respuesta de los psílicos a un color de trampa podría variar con la época del año e incluso con los cambios estacionales en el color de los árboles.

Los factores abióticos más importantes que afectan las capturas en trampas son la luminosidad y la temperatura ambiental (Hall, 2009). Según Hall (2009) las precipitaciones y la velocidad del viento no tienen efecto sobre las capturas. Aubert y Hua (1990) reportaron que las actividades de vuelo de *D. citri* son más pronunciadas en condiciones ambientales cálidas, soleadas y sin viento. La mayor actividad de los adultos ocurre entre 24 y 29 °C (Xie *et al.*, 1989, citados por Yang *et al.*, 2006) y las temperaturas inferiores a 8 °C producen inactividad (Wu citado por Yang *et al.*, 2006; Xie *et al.* citados por Yang *et al.*, 2006). Los vuelos ocurren fundamentalmente durante las horas del día, con una pronunciada actividad entre las 12 AM y 15 PM (Sétamou *et al.*, 2012).

En la parcela de Itapebí la temperatura promedio cada 15 días fue inferior a 20 °C a partir de abril, este valor se encuentra por debajo del rango de temperaturas óptimas sugeridas para la actividad de los adultos. Además, la ausencia de brotes a partir de abril (Figura 2A) también podría ser otro factor que haya limitado la actividad de los adultos, afectando de esta forma las capturas en trampas. Para *Cacopsylla pyricola* (Foerester) se indica que el uso de trampas adhesivas amarillas es útil para la toma de decisiones de manejo, pero a menudo el comportamiento o la actividad de los adultos afectan las capturas (Horton y Lewis, 1997). Estos autores recomiendan utilizar el método de golpeo de ramas para obtener estimaciones más precisas de la abundancia de los adultos en las plantas.

Al comparar el crecimiento de poblaciones a través del modelo logístico no se encontraron diferencias entre sitios ni entre métodos de monitoreo (Cuadro 3), lo cual explica que las curvas de crecimiento de las poblaciones sean similares entre métodos y sitios (Figura 3).

Cuadro 3. Estimadores e intervalos de confianza al 95% de los parámetros de la ecuación logística (B_0 , B_1 , B_2) y días al punto de inflexión (P_i) para los métodos: trampas adhesivas amarillas, golpeo e inspección de ramas.

Sitio	Método	B_0	B_1	Li - Ls	B_2	Li - Ls	P_i
Itapebí	Trampas	1,0	21,7	9,4 - 49,9	0,020	0,016 - 0,025	152
	Golpeo	1,0	41,0	15,4 - 108,8	0,019	0,015 - 0,024	192
	Inspección	1,0	42,7	16,2 - 112,8	0,019	0,015 - 0,024	197
Quebracho	Trampas	1,0	86,1	31,1 - 238,4	0,032	0,026 - 0,038	138
	Golpeo	1,0	27,7	11,7 - 65,5	0,023	0,018 - 0,028	145
	Inspección	1,0	31,6	11,7 - 85,7	0,027	0,021 - 0,033	127

En la parcela de Itapebí, cuando se comparan los métodos, el momento en que se alcanzó el 50% de la población acumulada fue similar entre el golpeo y la inspección de ramas, correspondiendo a la tercera semana de marzo de 2008. Para las trampas el punto de inflexión ocurrió antes, a los 152 días de iniciados los muestreos, correspondiendo a la primera semana de enero de 2009 (Figura 3). Como fue señalado anteriormente durante el otoño las capturas en trampas fueron muy bajas en este sitio (Figura 2A), por lo cual el 50 % de la población acumulada se registró antes que en los otros métodos.



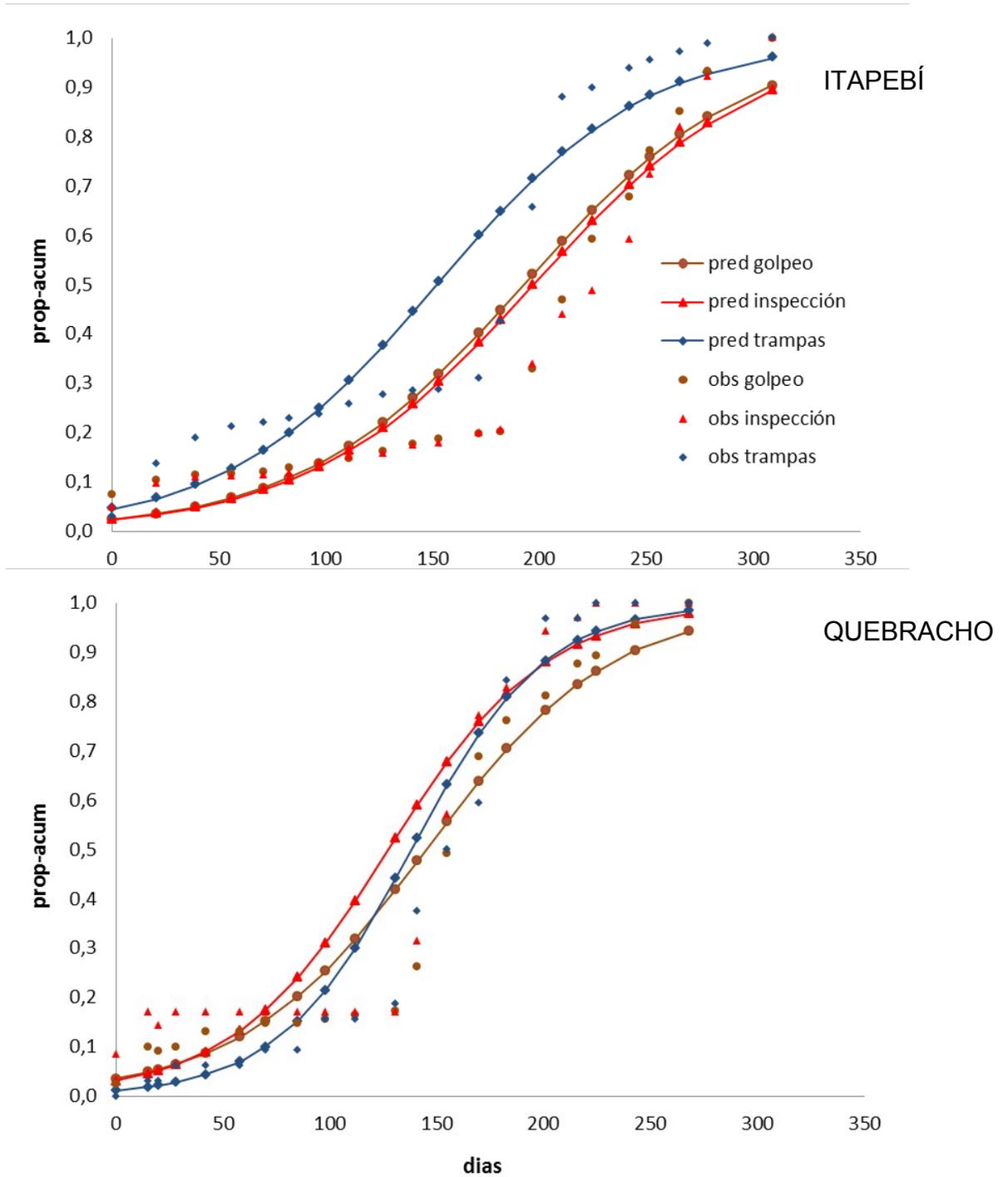


Figura 3. Valores observados y predichos de la proporción acumulada de adultos de *D. citri* en función de las fechas de muestreo en los sitios de Itapebí y Quebracho.

En Quebracho, el 50% de la población acumulada estimada fue similar entre los tres métodos de monitoreo (Cuadro 3 y Figura 3). En ambos sitios los puntos de inflexión para la estimación del golpeo están asociados a los momentos en que ocurrieron los máximos poblacionales en ambas parcelas (Figura 2 A y B).

En relación a la proporción de árboles infestados por adultos, se constató que los tres métodos detectaron la presencia de adultos en ambos sitios de muestreo. Sin embargo, el método de golpeo de ramas detectó una mayor proporción de árboles infestados en ambos sitios (Cuadro 4).

Cuadro 4. Proporción estimada y límites de confianza al 95% de veces que se detectan adultos por árbol según trampas adhesivas amarillas, golpeo e inspección de ramas, en dos sitios de muestreo ubicados en Itapebí y Quebracho.

Sitio	Método	P estimada	Li	Ls
Itapebí	Trampas	0,47	0,37	0,56
	Golpeo	0,73	0,64	0,80
	Inspección	0,44	0,35	0,53
Quebracho	Trampas	0,05	0,03	0,09
	Golpeo	0,16	0,12	0,20
	Inspección	0,05	0,03	0,08

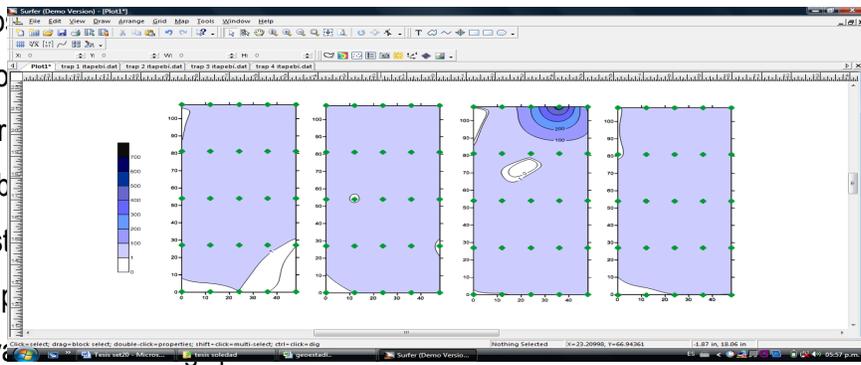
En nuestro estudio el golpeo de ramas resultó más conveniente que los otros dos métodos para detectar árboles infestados con adultos en los dos sitios, lo cual confirma lo reportado Rubio *et al.* (2009). Por el contrario, Hall *et al.* (2007) encontraron que las trampas y el golpeo no difirieron en su capacidad para detectar árboles infestados. También existen reportes que indican que en condiciones de bajas poblaciones las trampas amarillas detectan más eficientemente árboles infestados con adultos que el golpeo de ramas (Hall y Hentz, 2010).

Analizando la distribución en el espacio de las capturas acumuladas por árbol para cada método de monitoreo, se observa que en Itapebí a partir del verano y durante el otoño, fue el método de golpeo el que detectó la presencia de focos donde los otros dos métodos no lo hicieron (Figura 4). En este mismo sitio, las trampas no detectaron la ocurrencia de focos de

adultos durante el otoño. En Quebracho, la abundancia de adultos fue muy baja, pero igualmente fue el golpeo el que detectó mejor la presencia de adultos en el espacio (Figuras 5).

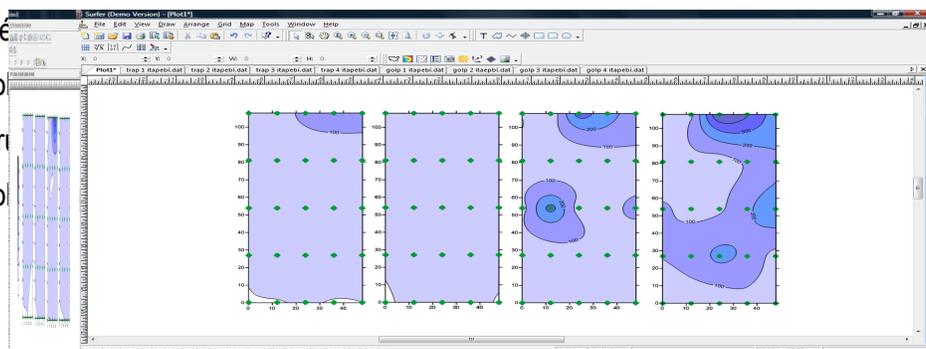
De forma general, el golpeo de ramas resultó fácil de implementar y provee de información sobre la presencia y abundancia de los adultos durante una sola visita al sitio de muestreo. La inspección de ramas también provee de información con una sola visita al predio, sin embargo, requiere de mayor tiempo para su ejecución, así como de extremar los cuidados para detectar los adultos sobre la superficie vegetal, ya que éstos tienden a ocultarse. Las trampas adhesivas son poco costosas, rápidamente disponibles y de fácil manejo, sin embargo, detectaron una menor proporción de árboles infestados y no son adecuadas para estimar la abundancia de los adultos y la presencia de focos en las parcelas durante el otoño. Además, fue común observar la captura de insectos “no objetivo”, los que podrían interferir con las capturas del psílido. Si bien

todos los
población
detectar
y alta ab
Est
de las p
adhesiva

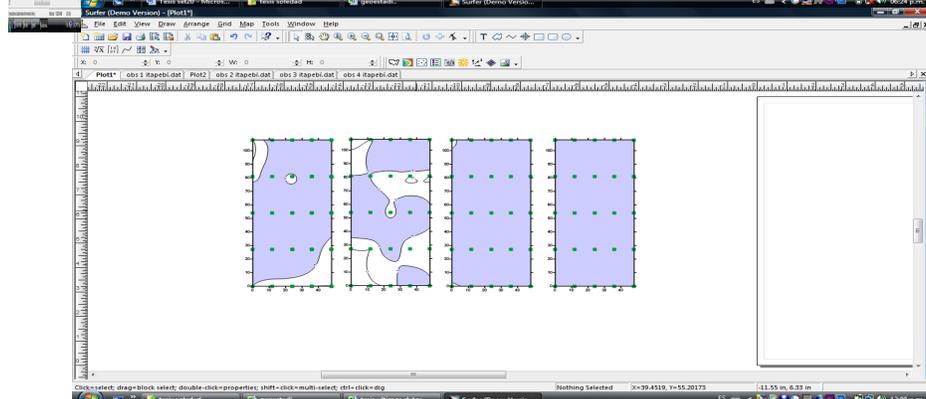


actuación de las
capacidad para
ciones de baja
ia y fluctuación
Aa las trampas
el psílido es el

me
po
Un
gol



la densidad de
la situación de
niente utilizar el



B
C

Figura 4. Distribución en el espacio de adultos de *D. citri* de acuerdo a los métodos de monitoreo y los períodos de brotación en Itapebí, Salto. A. trampas. B. golpeo. C. inspección.

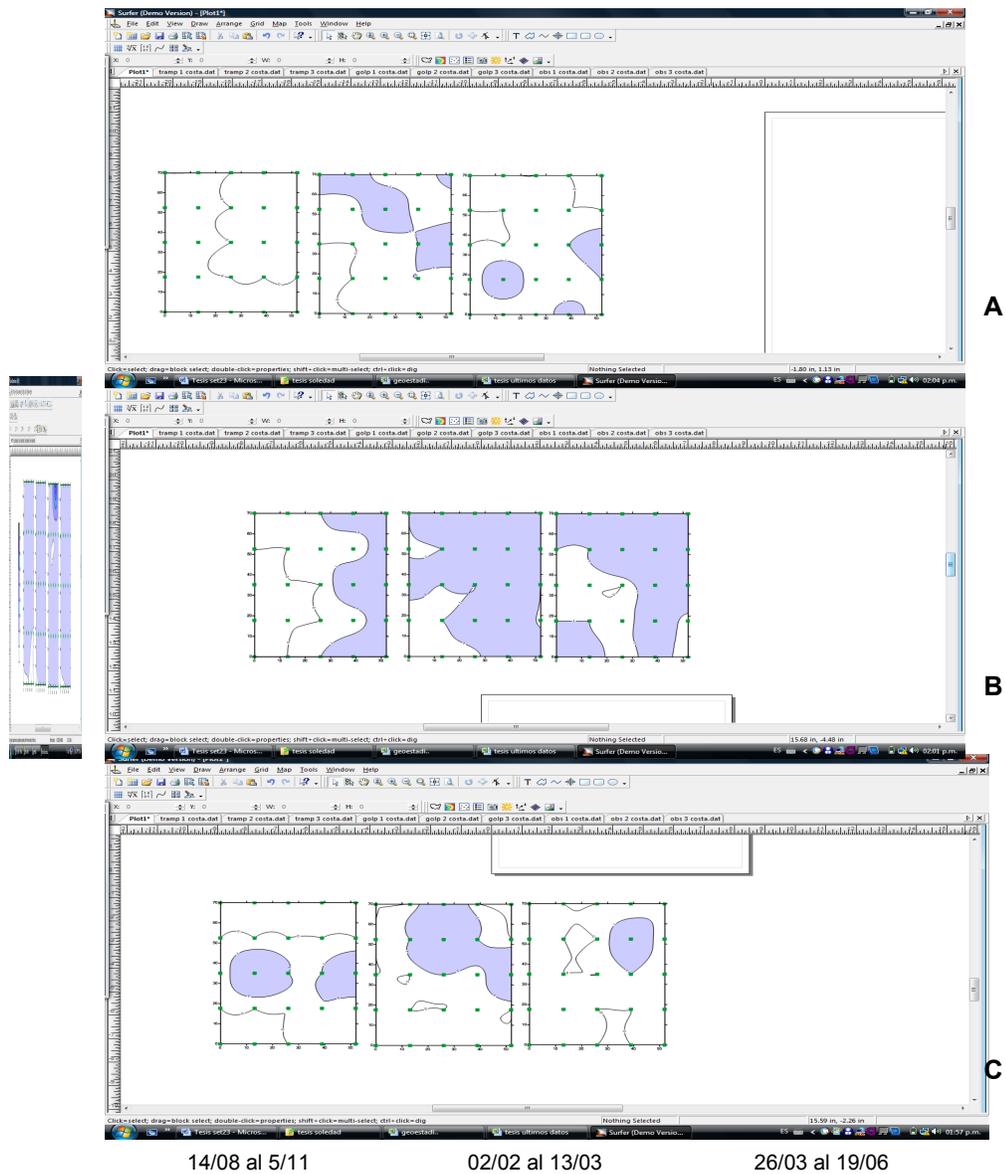


Figura 5. Distribución en el espacio de adultos de *D. citri* de acuerdo a los métodos de muestreo y los períodos de brotación en Quebracho, Paysandú. A. trampas. B. golpeo. C. inspección.

2.6 BIBLIOGRAFÍA

- Asplanato G, Pazos J, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L. 2011. El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): primeros estudios bioecológicos en Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Serie FPTA N° 28. 48p.
- Aubert B, Hua X. 1990. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus and *Murraya* canopies. *En: International Asian Pacific Conference on Citrus Rehabilitations* (4°, 1990, Chiang Mai, Thailand). Proceedings. Aubert, B, Tontyaporn S y Buangsuwon D (eds.). pp. 181-187.
- Aubert B, Quilici S. 1988. Monitoring adult psyllas on yellow traps in Reunion Island. *En: 10th Conference of International Organization of Citrus Virologists* (10°, 1988, Riverside, California). Proceedings. Garnsey, S. M., Timmer, L. W. y Dodds, J. A. (eds.). pp. 249-254.
- Bernal R. 1991. *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) nuevo insecto detectado en montes cítricos en el área de Salto, Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Hoja de Divulgación. N° 25. 1p.
- Boina D, Meyer W, Onagbola E, Stelinski L. 2009. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) by immunomarking and potential impact of unmanaged groves on commercial citrus management. *Environmental Entomology*. 38(4): 1250-1258.
- Bové J. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*. 88(1): 7-37.
- Brodsgaard H. 2009. Coloured sticky traps for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae) in glasshouses. *Journal of Applied Entomology*. 187 (1-5): 136-140.
- Catling HD. 1972. Factors regulating populations of psyllid vectors of greening. *En: Conference of International Organization of Citrus Virologists* (5°, 1972, Richmond, California). Proceedings. pp. 51-57.
- Catling HD. 1970. Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease, with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri* Kuw. *FAO Plant Protection Bulletin*. 18: 8-15.

- Chavan J, Summanwar AS. 1993. Populations dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw., in Maharashtra. *En: Conference of International Organization of Citrus Virologists* (12º, 1993, New Delhi, India). Proceedings. Moreno, Graça y Timmer (eds.) pp. 286-290.
- Comisión Internacional de l'Eclairage. 1976. 18th Session, London, England, Setember 1975. CIE Publication 36.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Gillespiei D, Vernonz R. 1990. Trap catch of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as affected by color and height of sticky traps in mature greenhouse cucumber crops. *Journal of Economic Entomology*. 83 (3): 971-975.
- Gillespiei D, Quiring D. 1987. Yellow sticky traps for detecting and monitoring greenhouse whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) adults on greenhouse tomato crops. *Journal of Economic Entomology*. 80 (3): 675-679.
- Graça J. 2010. Etiology, history and world situation of citrus Huanglongbing. *En: 2º Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos*. (2º, 2010. Mérida, Yucatán). pp. 2-7.
- Halbert S. 2005. The discovery of Huanglongbing in Florida. *En: International Citrus Canker and Huanglongbing research workshop* (2º, 2005, Orlando, Florida). Proceedings. Florida Citrus Mutual. p. 3.
- Halbert S y Manjunath K. 2004. Asian citrus psyllid (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*. 87(3): 330-353.
- Hall D, Hentz M. 2010. Sticky Trap and Stem–Tap Sampling Protocols for the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*. 103(2): 541-549.
- Hall D, Sétamou M, Mizell R. 2010. A comparison of sticky traps for monitoring Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). *Crop Protection*. 29 :1341-1346.

- Hall D. 2009. An assessment of yellow sticky card traps as indicators of the abundance of adult *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Journal of Economic Entomology*. 102(1): 446-452.
- Hall D, Hentz M, Adair R. 2008. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. *Environmental Entomology*. 37(4): 914-924.
- Hall D, Hentz M, Adair R, Ciomperlik M. 2007. A comparison of traps and stem tap sampling for monitoring adult asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Florida Entomologist*. 90(2): 327-334.
- Heinz K, Parella M, Newman J. 1992. Time-efficient use of yellow sticky traps in monitoring insects populations. *Journal of Economic Entomology*. 85 (6): 2263-2269.
- Horton D, Lewis T. 1997. Quantitative relationship between sticky trap catch and beat tray counts of pear psylla (Homoptera: Psyllidae): seasonal, sex and morphotypic effects. *Journal of Economic Entomology*. 90(1): 170-177.
- Knapp J, Halbert S, Lee R, Hoy M, Clarck R, Kesinger M. 2006. The asian citrus psyllid and citrus greening disease. En línea. Consultada en octubre 2010. Disponible en: <http://ipm.ifas.ufl.edu/agriculture/citrus/asian.shtml>.
- Kobori Y, Nakata T, Ohto Y, Takasu F. 2011. Dispersal of adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), the vector of citrus greening disease, in artificial release experiments. *Applied Entomology Zoology*. 46: 27-30.
- Patt J, Sétamou M. 2010. Responses of asian citrus psyllid to volatiles emitted by the flushing shoots of its Rutaceous host plants. *Environmental Entomology*. 39(2): 618-624.
- Rubio L, Buenahora J, Amuedo S, Asplanato G. 2009. Evaluación de distintas técnicas de muestreo para adultos y estados inmaduros de *D. citri*. Serie de actividades de difusión n° 569. INIA Salto Grande. Uruguay. pp 29-32.
- Samways M. 1987. Spatial and temporal population patterns of *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Hemiptera: Diaspididae) parasitoids (Hymenoptera: Aphelinidae and Encyrtidae) caught on yellow sticky traps in citrus. *Bulletin of Entomological Research*. 76: 265-274.
- SAS Institute Inc. 2007. SAS OnlineDoc® 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.

- Sétamou M, Sánchez A, Patt J, Nelson S, Jifon J, Louzada E. 2012. Diurnal patterns of flight activity and effects of light on host finding behavior of the asian citrus psyllid. *Journal of Insect Behavior*. 25: 264-276.
- Southwood T, Henderson 2000. *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations*. Chapman and Hall. Second Edition. London and New York. 524pp.
- Surfer Demo Version 9.1.352. April 8 2009. Surface Mapping System. Copyright © 1993-2009, Golden, Software, Inc.
- Texeira D, Ayres A, Kitajima E, Tanaka F, Danet J, Jagoueix E, Saillard C, Bové J. 2005. First report of Huanglongbing- like disease of citrus in Sao Paulo state, Brazil, and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. *Plant Disease*. 89(1): 107.
- Yang Y, Huang M, Andrew G, Beattie C, Xia Y, Ouyang G, Xiong J. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: A status report for China. *International Journal of Pest Management*. 52(4): 343-352.

3. ABUNDANCIA Y FLUCTUACIÓN DE LAS POBLACIONES DE *Diaphorina citri* **(HEMIPTERA: PSYLLIDAE) EN CÍTRICOS DE URUGUAY²**

3.1 RESUMEN

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* es vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., responsable del “Huanglongbing”. La abundancia y fluctuación de las poblaciones de *D. citri* fueron estudiadas en dos parcelas localizadas en Paysandú y Salto. Los muestreos se realizaron desde agosto de 2008 hasta junio de 2009. En cada sitio se seleccionaron 25 árboles. Una rama al azar de cada cuadrante de los árboles se escogió, donde se registró el número de adultos utilizando el método de golpeo. Se contabilizó el número de brotes en una superficie de 1 m² por árbol para evaluar el nivel de brotación. Se tomaron al azar ocho brotes por planta y se contó el número de huevos, ninfas vivas y parasitadas. La abundancia de adultos varió significativamente entre sitios, pero no se encontraron diferencias significativas en la abundancia de inmaduros. Los adultos estuvieron presentes en la mayoría de las fechas de muestreo. Las poblaciones de inmaduros fueron más abundantes en brotes entre 2 y 5 cm de longitud. Las poblaciones del psílido aumentaron durante fin de verano e inicios de otoño. El parasitismo fue muy bajo, y el único parasitoide observado fue *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae).

Palabras claves: psílido asiático de los cítricos, *Tamarixia radiata*, abundancia de poblaciones

² Este capítulo está escrito siguiendo las indicaciones para autores de la Revista Agrociencia de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República Oriental del Uruguay

Abundance And Populations Fluctuations Of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) In Citrus Of Uruguay

3.2 SUMMARY

The Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* is vector of the bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. responsible for “Huanglongbing”. The abundance and fluctuation of *D. citri* populations were studied in two orchards located in Paysandú and Salto. The samplings were performed from August 2008 to June 2009. Twenty- five trees were selected in each orchard. A branch was randomly chosen from each quadrant of the trees where the number of adults was registered using the stem-tap sampling method. The number of flushes was counted in a surface of 1 m² per tree to evaluate the flushing level. Eight flushes randomly selected per tree were taken to count the number of eggs, live and parasitized nymphs. The abundance of adults was significantly different between orchards, but there was no significant difference in the abundance of immature stages. The adults were present in most sample dates. The immature populations were most abundant in flushes between 2 and 5 centimeters of length. The psyllid population increased during late summer and beginning of autumn. The parasitism was very low, and the only parasitoid observed was *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae).

Keywords: Asian citrus psyllid, *Tamarixia radiata*, populations abundance

3.3 INTRODUCCIÓN

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), es vector de las bacterias asociadas al Huanglongbing. Este insecto se cita por primera vez en Uruguay en el año 1991 (Bernal, 1991). El Huanglongbing es considerada la enfermedad más destructiva que afecta a los cítricos en el mundo (Bové, 2006), hasta el momento no ha sido detectada en nuestro país. En el 2004 fue reportada por primera vez en el continente americano, en el estado de San Pablo, Brasil (Texeira *et al.*, 2005). La presencia del patógeno en la región representa una amenaza para la citricultura de Uruguay. En ausencia de la bacteria, el vector no causa daños de relevancia, excepto en viveros y plantas jóvenes donde a través de la succión de savia puede producir una reducción en el crecimiento e incluso la muerte de brotes (Halbert y Manjunath, 2004).

Entre los factores bióticos más importantes regulando las poblaciones del psílido se encuentran la disponibilidad de brotes en crecimiento en las plantas hospedantes y los enemigos naturales. Los brotes son necesarios para la oviposición y desarrollo de las ninfas, debido a que las hembras del psílido sólo oviponen en éstos y las ninfas cumplen todo su desarrollo sobre ellos (Arredondo, 2009; Hall *et al.*, 2008; Pluke *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2002; Chavan y Summanawar 1993; Catling, 1972; Catling, 1970). Además, los adultos prefieren alimentarse de brotes en crecimiento, aunque podrían sobrevivir largos períodos en ausencia de los mismos alimentándose sobre hojas maduras (Halbert y Manjunath, 2004; Mead, 1977; Catling, 1970). Entre los enemigos naturales se reportan como parasitoides primarios a *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) y *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae). *T. radiata* es un ectoparasitoide que prefiere alimentarse sobre ninfas de cuarto y quinto estadio de desarrollo. Es considerado como el parasitoide más eficiente en el control del psílido (Aubert, 1987).

En relación a los factores abióticos más importantes se encuentran la temperatura y las precipitaciones. La temperatura tiene un efecto significativo sobre la tasa de desarrollo, supervivencia, reproducción y longevidad de los adultos de *D. citri* (Nava *et al.*, 2007; Nakata, 2006; Liu y Tsai, 2000). Las temperaturas entre 25 y 28°C son las más adecuadas para el

crecimiento de las poblaciones del insecto (Liu y Tsai, 2000). Las temperaturas inferiores a 10°C y mayores a 33°C no permiten completar el desarrollo de los estados inmaduros (Liu y Tsai, 2000). En Florida (EEUU) la abundancia de ninfas y adultos se encontró correlacionada positivamente con la temperatura media, máxima y mínima del aire (Hall *et al.*, 2008). En otras regiones cítricas los picos poblacionales del psílido ocurren durante primavera- verano (Hall *et al.*, 2008; Yamamoto *et al.*, 2001; Regmi y Lama, 1988). Sin embargo, los aumentos poblacionales pueden ocurrir en cualquier momento del año si se presentan condiciones climáticas favorables para el insecto y hay disponibilidad de brotes (Hall *et al.*, 2008). Las precipitaciones afectan las poblaciones del insecto, se ha encontrado que lluvias intensas pueden provocar la muerte de huevos y ninfas por arrastre de la superficie vegetal (Ahmed *et al.*, 2004; Regmi y Lama, 1988; Aubert, 1987).

En estudios previos realizados en Uruguay el psílido no mostró un patrón definido de fluctuación, en algunos años las poblaciones de inmaduros y adultos fueron máximas durante primavera-verano y en otros, durante el otoño. Los adultos logran sobrevivir las condiciones invernales, aunque en bajas poblaciones. A partir de la primavera en algunos sitios fue detectado el ectoparasitoide *T. radiata* parasitando ninfas, en general con parasitismos bajos (Asplanato *et al.*, 2009). Los objetivos de este trabajo fueron estudiar la fluctuación de la abundancia de las poblaciones de *D. citri* en cítricos, identificar las especies de parasitoides presentes y estimar su parasitismo.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en dos sitios, una parcela de tangor 'Ortanique' localizada en Itapebí, departamento de Salto y una de naranjos 'Washington Navel' ubicada en Quebracho, Paysandú. Las plantas estaban injertadas sobre *Poncirus trifoliata*. La parcela ubicada en Itapebí no tenía riego y fue implantada en 1996 con una distancia de plantación de 6 x 3 m. El área de evaluación fue de 0,9 ha. La otra parcela tenía riego por goteo y fue implantada en 1998 con una distancia de plantación de 6,5 x 3,5 m. En este caso el área de evaluación fue de 0,8 ha. En ambos sitios no se realizaron tratamientos con insecticidas durante el transcurso del estudio y

fueron efectuados los manejos convencionales de cada establecimiento en cuanto al control de enfermedades, fertilizaciones y podas.

Los muestreos fueron realizados desde agosto del 2008 hasta junio del 2009. En cada parcela se seleccionaron 25 árboles de forma sistemática. Las plantas se escogieron en filas alternadas, distanciadas entre sí cada 27 m en Itapebí y 17,5 m en Quebracho. Quincenalmente, se evaluó la abundancia de los adultos mediante el método de golpeo. En cada planta seleccionada se tomaron al azar cuatro ramas alrededor de la copa. Se colocó una plancha engomada de 0,20 x 0,20 m debajo de cada rama y se golpeó tres veces, contabilizándose el número de adultos.

Para evaluar el nivel de brotación se contabilizaron todos los brotes presentes en un marco de $\frac{1}{4}$ m² en cada cuadrante del árbol. Los brotes fueron discriminados en cuatro tipos según su desarrollo (Figura 6). El brote tipo 1 presentaba todas las hojas sin expandir y un largo aproximado de hasta 2 cm, en el tipo 2 las hojas basales habían comenzado a expandirse, mientras que las apicales se mantenían pequeñas y su longitud aproximada era entre 2 y 5 cm. En el brote tipo 3 el largo aproximado era entre 5 y 10 cm y las hojas basales habían alcanzado su máximo desarrollo, en el tipo 4 todas las hojas habían alcanzado su tamaño definitivo pero se mantenían tiernas.

Para evaluar la población de inmaduros se tomaron al azar ocho brotes por árbol, dos de cada cuadrante de la planta. En laboratorio bajo microscopio estereoscópico se contabilizó el número de huevos, ninfas vivas y ninfas parasitadas por brote. Los brotes fueron discriminados por tipo y las ninfas por estadio de desarrollo. Las ninfas parasitadas se colocaron en cámara de cría hasta la emergencia de los parasitoides. Éstos se conservaron en alcohol 70% hasta su identificación.



Figura 6. Tipos de brotes. A. Brote tipo 1, B. Brote tipo 2, C. Brote tipo 3, D. Brote tipo 4.

Para el cálculo de la abundancia anual y por tipo de brote fueron acumulados los datos por árbol. Se utilizó un Modelo Lineal Generalizado, empleando el procedimiento GLIMMIX del programa SAS versión 9.2 (2007). Se asumió distribución Poisson para las variables. Se calcularon las medias y sus intervalos de 95% de confianza. El porcentaje de parasitismo fue calculado en base a las ninfas consideradas susceptibles (tercer, cuarto y quinto estadio de desarrollo). Se construyeron gráficos de fluctuación de poblaciones con los valores medios de adultos por rama, inmaduros por brote y brotes por m² para cada fecha y sitio de muestreo.

3.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1 Abundancia de inmaduros por tipo de brote

Los huevos y ninfas de *D. citri* fueron más abundantes en los brotes tipo 2, observándose diferencias significativas con los otros tipos de brotes (Cuadro 5). Arredondo (2009) estudiando la abundancia del psílido en relación a la brotación en cítricos encontró que los inmaduros fueron más abundantes en brotes jóvenes de menor tamaño. Algo similar fue encontrado en nuestro estudio, donde observamos una mayor abundancia de inmaduros en brotes tipo 2, de entre 2 y 5 cm de largo.

Cuadro 5. Media y error estándar del número de huevos y ninfas en cada tipo de brote acumulados por árbol durante el período de estudio.

Brote	Huevos [†]	EE	Ninfas [†]	EE
1	18,1 b	3,3	7,8 bc	2,4
2	30,1 a	4,0	23,6 a	4,2
3	15,5 b	2,9	12,2 b	3,0
4	0,90 c	0,7	4,3 c	1,9

[†] Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias estadísticas (P < 0,05)

3.5.2 Abundancia anual y fluctuación de poblaciones

La abundancia anual de los adultos varió significativamente entre los sitios de muestreo (Cuadro 6). En la parcela de 'Ortanique' localizada en Itapebí, las poblaciones de adultos fueron más abundantes que en los naranjos 'W. Navel' de Quebracho. Sin embargo, la densidad de inmaduros no fue significativamente diferente entre los sitios (Cuadro 6). Las diferencias entre los momentos y duraciones de los períodos de brotación entre las parcelas podrían explicar la similar abundancia de inmaduros a pesar de las diferencias en las poblaciones de adultos entre los sitios de muestreo.

Cuadro 6. Medias e intervalos de confianza al 95% del número de adultos e inmaduros acumulados por árbol durante el período de estudio.

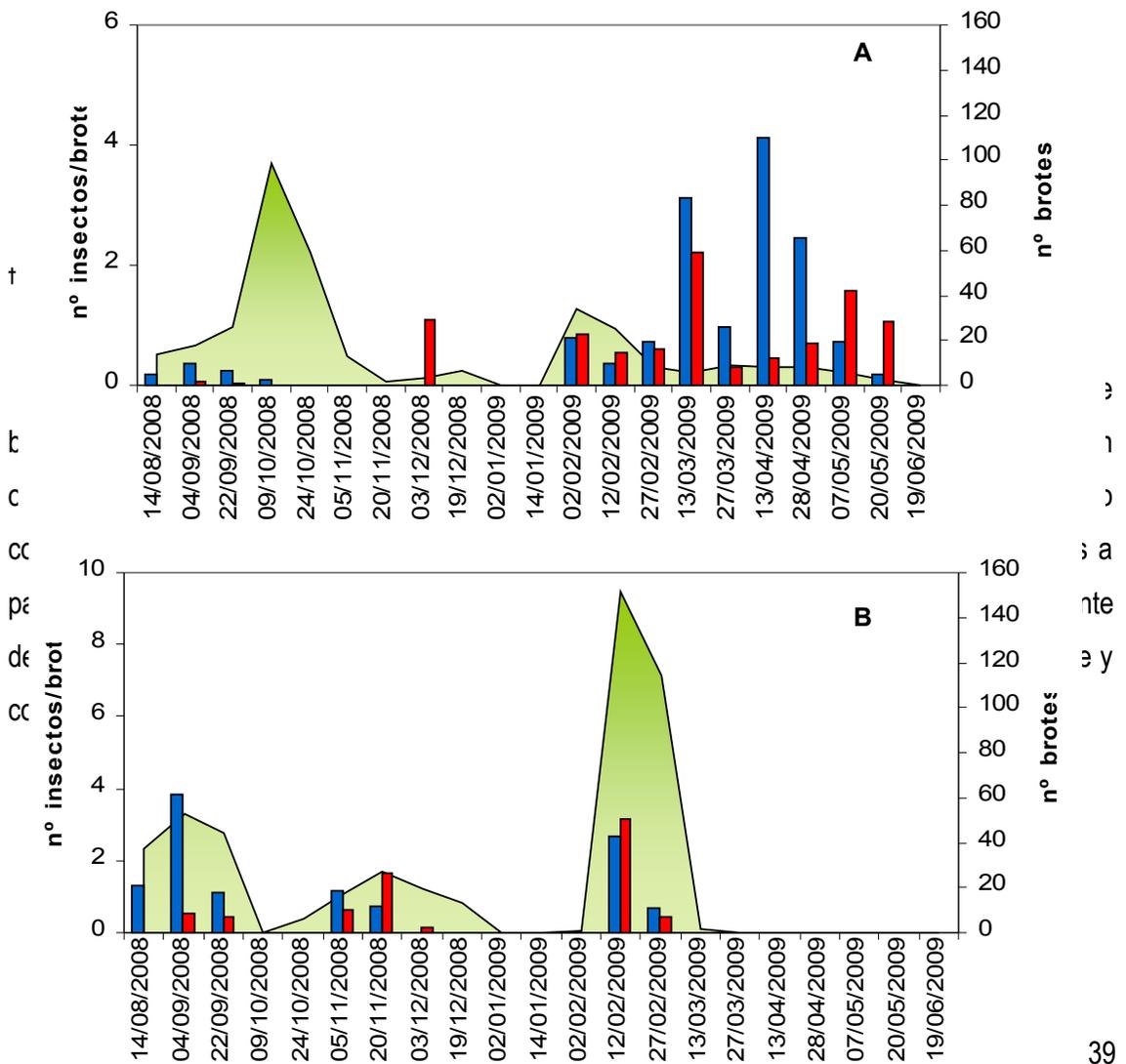


Figura 7. Fluctuación de poblaciones de inmaduros de *D. citri* y nivel de brotación en las parcelas localizadas en Quebracho (A) e Itapebí (B).

En Quebracho también se observaron tres períodos de brotación, el primero se extendió desde agosto hasta noviembre, un segundo flujo vegetativo fue observado entre noviembre y diciembre, y un extenso período de brotación entre febrero y mayo (Figura 7 A). La presencia de brotes durante fin de verano y otoño probablemente fue favorecida por el riego, ya que las precipitaciones fueron muy escasas. En general, sitios con brotaciones más abundantes y prolongadas en el tiempo presentan las mayores poblaciones de *D. citri* (Pluke *et al.*, 2008). La

presencia de brotes durante el otoño en la parcela de Quebracho permitió la oviposición y el desarrollo de los inmaduros, sin embargo esto no permitió un aumento en las poblaciones de adultos en esta parcela. Probablemente las condiciones climáticas, fundamentalmente las temperaturas durante ese último período de brotación no fueron las más adecuadas para que los estados inmaduros completen el desarrollo.

En la parcela de naranjos de Quebracho las poblaciones fueron bajas durante el primer flujo vegetativo, incrementándose en las siguientes brotaciones y alcanzando el máximo durante el otoño. En el sitio de Itapebí desde el inicio de la primavera las poblaciones fueron altas, observándose los máximos poblacionales durante el verano. Esta situación permitió que las poblaciones de *D. citri* en Itapebí fueran mayores desde el inicio de la temporada a diferencia de lo ocurrido en Quebracho.

La bibliografía menciona que en situaciones de bajas precipitaciones las poblaciones del psílido pueden ser altas. Cuando las lluvias son superiores a 150 mm mensuales se produce arrastre de huevos y ninfas de la superficie vegetal, provocando mortalidad (Aubert, 1987). Las precipitaciones registradas durante el período de estudio fueron escasas, alcanzando 300 mm acumulados, valor muy por debajo del promedio anual (1200 mm), por lo que este factor no parecería ser determinante en explicar las distintas abundancias observadas entre los sitios de muestreo. Sin embargo, las lluvias juegan un papel importante en determinar los momentos e intensidades de los flujos vegetativos en los cítricos, fundamentalmente en aquellos sitios sin riego. De esta forma, las precipitaciones podrían afectar las poblaciones del psílido en nuestras condiciones.

Durante las primeras fechas de muestreo fue observada la presencia de adultos, éstos provenían de la temporada anterior, lograron sobrevivir las condiciones invernales e iniciaron la puesta durante el primer período de brotación, dando origen a los primeros estados inmaduros de la temporada (Figuras 8 A y B). Los adultos son el estado de desarrollo que pasa el invierno en regiones donde los inviernos son relativamente fríos y no existe disponibilidad de brotes para el desarrollo de inmaduros (Yang *et al.*, 2006). En Florida (EEUU) con inviernos relativamente suaves los adultos se localizan dentro de la copa de los árboles, alimentándose sobre el envés de las hojas (Briansky y Stansly, 2007).

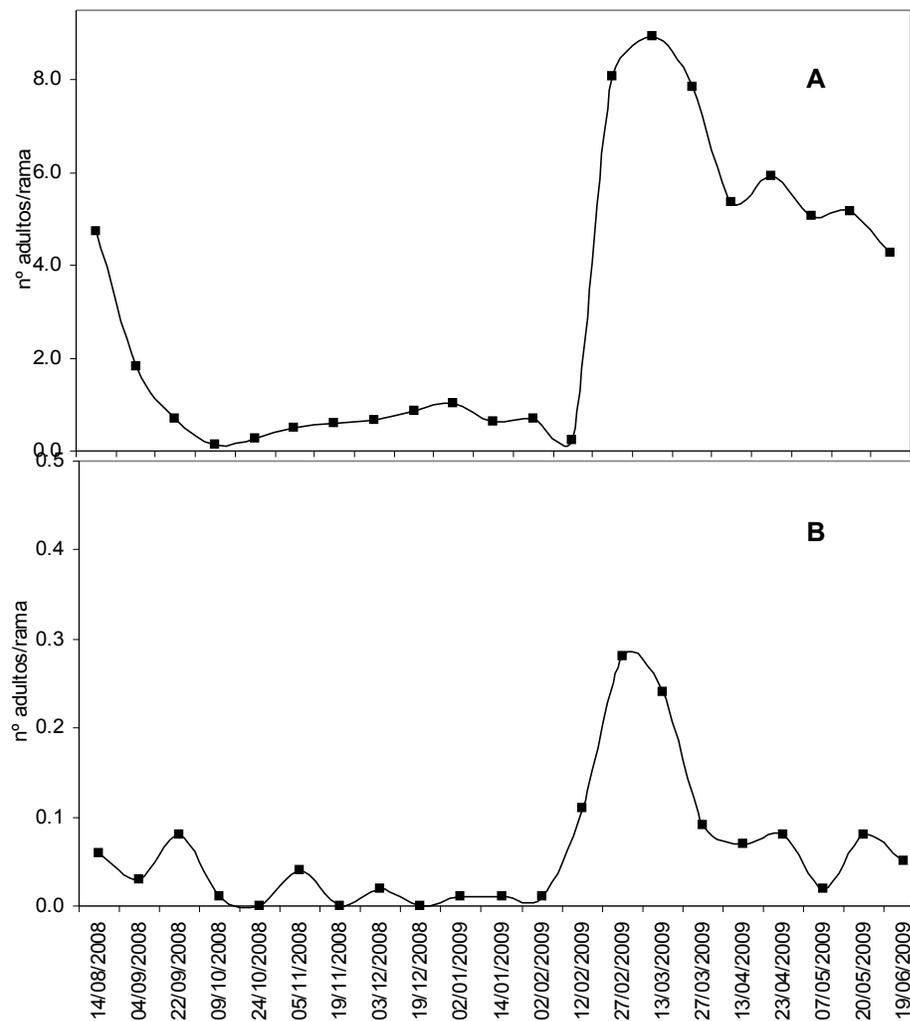


Figura 8. Fluctuación de poblaciones de adultos de *D. citri* en las parcelas ubicadas en Itapebí (A) y Quebracho (B).

El psílido tolera las bajas temperaturas, alcanzando a sobrevivir por más de 10 horas a $-1,9$ °C (Hall, 2008). La longevidad de las hembras es mayor a bajas temperaturas, pudiendo sobrevivir 88 días a 15 °C (Liu y Tsai, 2000). La temperatura media durante el invierno de 2008, previo al inicio del estudio fue 13 °C y la mínima temperatura diaria registrada durante ese período fue -2 °C. En nuestro estudio estas condiciones no parecen haber sido limitantes permitiendo de esta forma la supervivencia de los adultos durante el invierno.

La fluctuación de las poblaciones de adultos tuvo una tendencia similar en ambos sitios de muestreo, incrementándose hacia fin del verano (Figura 8 A y B). A partir del otoño la abundancia de adultos comenzó a disminuir, aunque en el sitio de Itapebí se mantuvo alta. Las condiciones climáticas, los momentos y la intensidad de los períodos de brotación podrían variar de año a año. Es así que otros estudios realizados en Uruguay encontraron que en algunos años la abundancia de las poblaciones de *D. citri* fue máxima durante la primavera y en otros tendió a incrementarse en el otoño (Asplanato *et al.*, 2009). En otras regiones se encontró una mayor población del psílido durante fin de primavera y comienzo de verano (Hall *et al.*, 2008; Yamamoto *et al.*, 2001; Regmi y Lama, 1988).

Las temperaturas del aire media, máxima y mínima desde el inicio de los muestreos hasta fin de primavera fueron 19, 25 y 13 °C, éstas estuvieron por debajo del óptimo para el desarrollo y supervivencia de los estados inmaduros, fecundidad y longevidad de las hembras (Nava *et al.*, 2007; Liu y Tsai, 2000).

Las poblaciones del psílido que se desarrollan sobre los flujos vegetativos del verano podrían ser afectadas por las altas temperaturas. Las temperaturas media, máxima y mínima registradas en el verano fueron 26, 32 y 19 °C, respectivamente. Aunque la temperatura media durante este período se encuentra dentro del óptimo para el crecimiento de las poblaciones del insecto, fueron registradas máximas promedio superiores a 30 °C, lo que podría haber provocado mortalidad de estados inmaduros y afectado negativamente la fecundidad y longevidad de las hembras (Liu y Tsai, 2000).

En el otoño se registró una temperatura media de 17 °C, mientras que los promedios de las máximas y mínimas fueron 24 y 11° C, respectivamente. En la parcela de Quebracho las plantas continuaron brotando y la abundancia de inmaduros se mantuvo alta, a pesar de que las temperaturas no eran las óptimas para el crecimiento de las poblaciones (Figura 7B).

La fluctuación de las poblaciones de adultos e inmaduros presentó una tendencia al aumento hacia fin del verano e inicio del otoño. La presencia de adultos fue detectada durante toda la temporada de estudio.

3.5.3 Parasitismo

La especie de parasitoide identificada fue *Tamarixia radiata* (Figura 9) (Hymenoptera: Eulophidae) (identificada por Sara Cáceres, com. pers.), se trata de un ectoparasitoide específico de *D. citri* considerado el más eficiente (Aubert y Quilici, 1984).

El parasitismo durante la temporada de estudio fue muy escaso. En Itapetí no se encontraron ninfas parasitadas, y en Quebracho solamente se observaron en dos fechas de muestreo, durante marzo, no superando el 12%. La mayoría de las ninfas parasitadas eran del cuarto estadio de desarrollo, aunque también se encontraron de tercero y quinto. El efecto del parasitoide sobre las poblaciones de la plaga no se limita sólo al parasitismo, ya que las hembras también se alimentan de ninfas. La combinación de estas dos actividades podría resultar en mortalidades elevadas (Chu y Chien, 1991).



Figura 9. *Tamarixia radiata*. Izquierda, macho. Derecha, hembra.

Tamarixia radiata se encuentra presente en Brasil y Argentina, con niveles de parasitismos relativamente altos (Cáceres *et al.*, 2008; Parra *et al.*, 2006). También en Florida (EEUU) se observan parasitismos que alcanzan niveles de hasta el 50% (Quereshi *et al.*, 2009). A pesar de los bajos parasitismos encontrados en este trabajo, es necesario seguir investigando el efecto de esta especie sobre *D. citri*. También, sería conveniente investigar el efecto de otros factores bióticos, en particular los depredadores, ya que éstos tendrían una mayor importancia como reguladores de las poblaciones del psílido en algunas regiones (Quereshi y Stansly, 2009; Pluke *et al.*, 2005; Michaud, 2004).

3.6 BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed S, Ahmad N, Khan R. 2004. Studies on Population Dynamics and Chemical Control of Citrus Psylla, *Diaphorina citri*. International Journal of Agriculture and Biology. 6(4): 970-973.
- Arredondo M. 2009. Abundant and population dynamic of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) as affected by flush shoot in different host plants. Tesis Maestría. Kingsville, Estados Unidos. Texas University. 78p.
- Asplanato G, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L. 2009. Fluctuación de las poblaciones y parasitismo. Serie de Actividades de Difusión N° 569. INIA Salto Grande. pp. 23-28.
- Aubert B. 1987. *Trioza erytrae* y *Diaphorina citri*, the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. Fruits. 42(1): 149-162.
- Aubert B, Quilici S. 1984. Biological control of the African and Asian citrus psyllids (Homoptera: Psylloidea) through eulophid and encyrtid parasites (Hymenoptera; Chalcidoidea) in Reunion Island. En: Conference International Organization of Citrus Virologist (9°, 1984, Riverside, California). Proceedings. Graça J, Moreno P, Yokomi R (eds.). pp. 392-394.
- Bernal R. 1991. *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) nuevo insecto detectado en montes cítricos en el área de Salto, Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Hoja de Divulgación. N° 25. 1p.
- Bové J. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. Journal of Plant Pathology. 88(1): 7-37.
- Briansky R, Rogers M. 2007. Citrus huanglongbing: understanding the vector- pathogen interaction for disease management. En línea. Consultada en abril 2009. Disponible en: <http://www.apsnet.org.online/feature/HLB>
- Cáceres S, Aguirre A, Miño V, Almirón I, González E, Heredia F. 2008. Líneas de acción para implementar el manejo de *Diaphorina citri* en Corrientes. En: Reunión de Entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector (1°, 2008, Corrientes, Argentina). Publicación Técnica N° 29. pp. 23-24.

- Catling HD. 1972. Factors regulating populations of psyllid vectors of greening. *En: Conference of International Organization of Citrus Virologists (5º, 1972, Richmond, California). Proceedings.* pp. 51-57.
- Catling H D. 1970. Distribution of psyllid vectors of citrus huanglongbing disease with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. *Plant Protection Bulletin.* 18: 8-15.
- Chavan J, Summanwar AS. 1993. Populations dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw., in Maharashtra. *En: Conference of International Organization of Citrus Virologists (12º, 1993, New Delhi, India). Proceedings.* Moreno, Graça y Timmer (eds.) pp. 286-290.
- Chu, Y.; Chien, C. 1991. Utilization of natural enemies to control of psyllid vectors transmitting citrus greening. *En: Integrated control of Plant Virus Diseases. Food and Fertilizer Technology Center of the Asian and Pacific Region (1991, Taipei, Taiwán).* Kirimati K, Su H, Chu Y (eds.). pp.135-145.
- Fernández M, Miranda I. 2005. Comportamiento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Parte I: Características morfológicas, incidencia y enemigos naturales asociados. *Revista Protección Vegetal.* 20(1): 27-31.
- Halbert S, Manjunath K. 2004. Asian citrus psyllid (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist.* 87(3): 330-353.
- Hall D. 2008. Effects of Freezes on Survival of *Diaphorina citri*. *En: International Research Conference on huanglongbing.* Orlando, Florida, EEUU. Diciembre, 2008. pp.192-193.
- Hall D, Hentz M, Adair R. 2008. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. *Environmental Entomology.* 37(4): 914-924.
- Liu Y, Tsai J. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homptera: Psyllidae). *Annual applied of Biology.* 137: 201-206.
- Mead F W. 1977. The Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homptera: Psyllidae). *Entomology Circular.* Nº 180. Florida Department of Agricultural and Consumer Service, Division of Plant Industry, Gainesville, Florida. 4pp.

- Michaud J. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in Central Florida. *Biological Control*. 29: 260-269.
- Nakata T. 2006. Temperature- dependent development of the citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psylloidea), and the predicted limit of its spread based on overwintering in the nymphal stage in temperate regions of Japan. *Applied Entomology and Zoology*. 41(3): 383-387.
- Nava D, Torres M, Rodríguez M, Bento J, Parra J. 2007. Biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) on different hosts and different temperatures. *Journal Applied of Entomology*. 131(9-10): 709-715.
- Netha Y. 2008. Effect of host plant on the bionomics of asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Tesis de Maestría. Kingsville, Estados Unidos. Texas University. 75p.
- Parra J, Nava D, Gómez Torres M. 2006. Biology and rearing techniques for the biological control of *Diaphorina citri*. *En: Huanglongbing – greening International Workshop(1º, 2006, Ribeirão Preto, SP, Brasil)*. Proceedings. p. 31.
- Pluke R, Quereshi J, Stansly P. 2008. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist*. 91(1): 36-41.
- Pluke R, Escibano A., Michaud J, Stansly P. 2005. Potential impact of ladybeetles on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist*. 88(2): 123-128.
- Quereshi J, Stansly P. 2009. Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. *Biological Control*. 50: 129–136.
- Regmi C, Lama T. 1988. Greening incidence and greening vector population dynamic in Pokhara. Diseases induced by prokaryotic pathogens. *En: Conference of International Citrus Virologist (10º, 1988, España)*. Proceedings. Timmer L, Garnsey S, Navarro L (eds.). pp. 238-242.
- SAS Institute Inc. 2007. SAS OnlineDoc® 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.

- Texeira D, Ayres A, Kitajima E, Tanaka F, Danet J, Jagoueix E, Saillard C, Bové J. 2005. First report of Huanglongbing- like disease of citrus in Sao Paulo state, Brazil, and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. *Plant Disease*. 89(1): 107.
- Tsai J, Wang J, Liu Y. 2002. Seasonal abundance of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomologist*. 85(3): 446-451.
- Yamamoto P, Paiva P, Gravena S. 2001. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en pomares de citros na regioo norte do estado de Sao Paulo. *Neotropical Entomology*. 30(1): 165-170.
- Yang Y, Huang M, Andrew G, Beattie C, Xia Y, Ouyang G, Xiong J. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: A status report for China. *International Journal of Pest Management*. 52(4): 343-352.

4. AGREGACIÓN DE LAS POBLACIONES DE *DIAPHORINA CITRI* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE) EN CÍTRICOS³

4.1 RESUMEN

Para conocer la agregación y distribución espacial de inmaduros y adultos de *D. citri* se seleccionó una parcela de naranjos “Washington Navel” localizada en Quebracho, Paysandú y otra de tangor “Ortanique” ubicada en Itapebí, Salto. Los muestreos fueron realizados quincenalmente desde agosto del 2008 hasta junio de 2009. En cada sitio fueron seleccionados 25 árboles. Una trampa adhesiva amarilla fue colgada en cada planta, y el número de adultos por trampa fue contabilizado. Una rama fue escogida de cada cuadrante de los árboles donde el número de adultos fue registrado utilizando el método de golpeo de ramas. La agregación de las poblaciones fue analizada usando la regresión de Iwao y la ley potencial de Taylor. La ley potencial de Taylor se ajustó mejor a los datos que la regresión de Iwao. La agregación de adultos varió entre los sitios de muestreo, mientras para los inmaduros no fueron encontradas diferencias entre sitios ni entre estados de desarrollo. El patrón de dispersión de adultos e inmaduros de *D. citri* fue agregado. La abundancia de inmaduros y adultos no varió significativamente entre los cuadrantes de la canopia de las plantas.

Palabras claves: dispersión, tamaño de muestra, ley potencial de Taylor, Regresión de Iwao

³ Este capítulo está escrito siguiendo las indicaciones para autores de la Revista Agrociencia de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República Oriental del Uruguay

Aggregations Of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) Populations In Citrus

4.2 SUMMARY

To know the aggregation and spatial distribution of *D. citri* adults and immature was selected a “Washington Navel” orange grove located in Quebracho, Paysandú, and a “Ortanique” tangor grove in Itapebí, Salto. The samplings were performed biweekly from August 2008 to June 2009. In each orchard twenty- five trees were selected. A yellow sticky trap was hung in each tree, and the number of adults per trap was counted. A stem was randomly chosen from each quadrant of the tree where the number of adults was registered using stem-tap sampling method. The populations aggregations was analyzed using Iwao’s patchiness regression and Taylor’s power law. Taylor’s power law fitted the data better than the Iwao’s model. The adults aggregations varied with the sampling fields, while for eggs and nymphs were not encountered significant differences between fields and development stages. The field dispersion pattern of *D. citri* immature and adults were aggregated. The immature and adults abundance not varied significantly between canopy quadrants.

Keywords: dispersion, sample size, Taylor’s power law, Iwao’s regression

4.3 INTRODUCCIÓN

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), fue reportado por primera vez en Uruguay en el año 1991 (Bernal, 1991). Este insecto es vector de las bacterias *Candidatus Liberibacter* spp., asociadas a la enfermedad denominada Huanglongbing o HLB (Bové, 2006). En el año 2004, el HLB fue detectado por primera vez en el continente americano, en el estado de San Pablo, Brasil (Teixeira *et al.*, 2005). En nuestro país, la enfermedad no ha sido descubierta, pero la presencia del psílido debe ser considerada como una amenaza ante una posible introducción y establecimiento de las bacterias. En áreas donde la enfermedad y *D. citri* se encuentran presentes, el control químico del vector es una de las estrategias de manejo, llegando a utilizarse de forma muy intensiva para disminuir las poblaciones del psílido y evitar así la dispersión de las bacterias. Además de lo anterior, *D. citri* provoca malformaciones en hojas y brotes a causa de la succión de savia e inyección de toxinas al alimentarse sobre sus hospedantes (Michaud, 2004). En general, estos daños no son de relevancia en árboles adultos, mientras que en plantas jóvenes pueden ser de mayor significancia (Grafton-Cardwell *et al.*, 2006).

La agregación de las poblaciones de insectos es una de las características ecológicas más importantes a conocer para realizar un muestreo eficiente de las mismas (Davis, 1994, Taylor, 1984). Los tipos clásicos de disposición espacial de las poblaciones han sido clasificadas en: aleatoria, agregada y uniforme (Southwood y Henderson, 2000). En particular para los insectos, es común observar cierto grado de agregación, algunos de los factores que afectan el patrón de distribución espacial de las poblaciones son: comportamiento al oviponer, preferencias alimenticias, lugares de diapausa, parasitismo, depredación, y condiciones climáticas (Cadahia, 1977).

En diferentes regiones, hospedantes y utilizando distintos coeficientes de agregación, las poblaciones de adultos e inmaduros de *D. citri* presentan un patrón de distribución agregado (Costa *et al.*, 2010; Sétamou *et al.*, 2008; Soemargono *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2000; Dharajothi *et al.*, 1989; Wang, 1981). En Uruguay no se han realizado hasta el momento estudios relacionados al patrón de distribución de este insecto.

Los objetivos de este trabajo fueron: analizar el patrón de agregación de adultos e inmaduros de *D. citri* sobre cítricos en las condiciones de Uruguay. Estos conocimientos son necesarios para entender la dinámica de poblaciones de la plaga, así como para contribuir al desarrollo de programas de manejo integrado del insecto vector del HLB.

4.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo fue realizado en dos sitios ubicados en predios comerciales de la zona norte de Uruguay, seleccionadas por presentar poblaciones abundantes del psílido en temporadas anteriores. La parcela localizada en Quebracho, departamento de Paysandú consistía en plantas de naranjos 'Washington Navel' implantadas en 1998, con una distancia de plantación de 6,5 x 3,5 m, con filas orientadas de este a oeste, tenía riego por goteo y el área de estudio fue de 0,8 ha. En la parcela ubicada en Itapebí, departamento de Salto los árboles eran de tangor 'Ortanique' implantados en 1996 con una distancia de plantación de 6 x 3 m, las filas tenían una disposición norte- sur, no tenía riego y la superficie del estudio fue de 0,9 ha. Los manejos en relación a podas, fertilizaciones y aplicación de funguicidas fueron los convencionales para cada predio. Los muestreos fueron realizados desde agosto del 2008 hasta junio del 2009 con una frecuencia quincenal. No fueron realizados tratamientos con insecticidas durante el periodo de estudio.

En cada parcela se seleccionaron 25 árboles de forma sistemática. Las plantas se escogieron en filas alternadas, con una distancia dentro de la fila de 27 m en Itapebí y 17,5 m en Quebracho. En cada planta se colocó una trampa adhesiva, de color amarillo cromo, referenciado por el sistema L*a*b con valores L: 80,71; a: +4,35; b: +81,80 (Comisión International de l'Eclairage, 1976). Las dimensiones eran 0,15 x 0,12 m. Sobre una de las caras se aplicó una capa fina de adhesivo permanente (Quemar S.R.L- SüsbinTM). Las trampas se ubicaron verticalmente en la parte más externa de la copa de los árboles a 1,5 m de altura, dirigidas con la cara con pegamento hacia la entrefila, orientadas hacia el este en Itapebí y el norte en Quebracho. Se contabilizó el número de adultos capturados por trampa en cada fecha de muestreo. De cada cuadrante de los árboles donde fueron colocadas las trampas se seleccionó al azar una rama de aproximadamente 40 cm de largo. En primera instancia se observó y registró

el número de adultos posados por rama, y posteriormente se golpeó tres veces cada una de ellas, contabilizándose el número de adultos caídos en una plancha engomada de 0,20 x 0,20 m. Además, fueron tomados al azar dos brotes de cada cuadrante de la planta. En laboratorio bajo microscopio estereoscópico se contabilizó el número de estados inmaduros (huevos y ninfas) por brote.

La agregación de las poblaciones para adultos e inmaduros fue determinada usando la ley potencial de Taylor (Taylor, 1961) y la regresión de Iwao (Iwao, 1968). La ley potencial de Taylor relaciona la media y la varianza a través de la ecuación, $S^2=am^b$, donde a es un parámetro de escala sin interpretación biológica relacionado al tamaño de la muestra, el coeficiente b describe el grado de agregación de una población en un ambiente y momento particular, S^2 es la varianza y m es la media. Los valores del coeficiente b indican la agregación de las poblaciones, distribución regular ($b<1$), agregada ($b>1$), y aleatoria ($b=1$) (Taylor, 1961). Se calcularon las medias y las varianzas para cada fecha de muestreo del número de adultos capturados por trampas, número de adultos por rama y del número de inmaduros por brote. Las varianzas y medias fueron transformadas al logaritmo, y los parámetros fueron estimados usando el modelo, $\ln(S^2)=\ln(a)+b\ln(m)$. Los parámetros a y b de la ley potencial de Taylor fueron estimados por regresión lineal simple. La regresión de Iwao está basada en la relación entre el índice de hacinamiento medio (m^*) y la densidad media (m) en base a la expresión $m^*=\alpha+\beta m$, donde $m^*=m+(S^2/m-1)$ (Lloyd, 1967). El coeficiente α es el índice de contagio básico y β es el coeficiente que describe la distribución de los individuos en su hábitat, valores $0<\beta > 1$, $\beta=1$, y $\beta>1$ muestran una distribución uniforme, aleatoria y agregada, respectivamente (Iwao, 1968).

De forma de estudiar la abundancia de inmaduros y adultos por punto cardinal, fueron calculadas las medias y los intervalos de 95% de confianza para el número de adultos e inmaduros acumulados por punto cardinal y árbol.

4.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.5.1 Agregación de las poblaciones de adultos e inmaduros

En la mayoría de los casos fue encontrada una fuerte relación entre la media y la varianza de las muestras utilizando la Ley Potencial de Taylor, con valores de R^2 superiores a 0,90. Mientras que para la Regresión de Iwao los valores de R^2 fueron más bajos y variables (Cuadro 7).

El buen ajuste de la ley potencial de Taylor ha sido reportado por otros autores que han estudiado la agregación de las poblaciones de *D. citri* (Soemargono *et al.*, 2008; Sétamou *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2000).

Para los adultos los coeficientes de agregación de la Ley potencial de Taylor fueron significativamente distintos entre los sitios de muestreo y los métodos de monitoreo. En Itapebí, utilizando trampas amarillas ($t_{\text{observado}}=11$, $P<0,0001$) y el golpeo de ramas ($t_{\text{observado}}=8,9$, $P<0,0001$) los coeficientes fueron mayores y distintos de uno, indicando distribución agregada de los adultos (Cuadro 7).

En la parcela de Quebracho, el coeficiente de agregación b para las trampas no fue estadísticamente distinto de uno ($t_{\text{observado}}= 0,91$, $P=0,39$), evidenciando distribución aleatoria (Cuadro 7). En este sitio la población de adultos fue muy baja durante todo el período de estudio, las medias de capturas en trampas amarillas no superaron en ninguna de las fechas de muestreo la unidad. Sin embargo, para el golpeo de ramas el coeficiente b fue significativamente distinto y mayor a uno ($t_{\text{observado}}= 2,6$, $P=0,02$). Esto podría tener relación con el mayor número de pares de datos utilizados en la regresión de las medias y varianzas de adultos por rama en comparación a los utilizados para las trampas (Cuadro 7).

Cuadro 7. Agregación de adultos e inmaduros entre árboles, determinados por ley potencial de Taylor y Regresión de Iwao en Itapebí y Quebracho.

Ley Potencial de Taylor							
Sitio	Estado de desarrollo	n	a	b	Li _b	Ls _b	R ²
Quebracho	Huevo	15	2,92	1,44	1,18	1,70	0,92
	Ninfa	15	3,43	1,71	1,63	1,80	0,99
	Adulto trampas	11	1,41	1,10	0,94	1,35	0,91
	Adulto golpeo	18	0,70	1,26	1,05	1,47	0,91
Itapebí	Huevo	8	4,78	1,32	0	2,65	0,49
	Ninfa	10	4,24	1,74	1,60	1,88	0,99
	Adulto trampas	21	3,72	2,10	1,89	2,32	0,96
	Adulto golpeo	21	2,59	1,71	1,53	1,89	0,96
Regresión de Iwao							
Sitio	Estado de desarrollo	n	α	β	Li _{β}	Ls _{β}	R ²
Quebracho	Huevo	15	0,97	1,76	1,10	2,41	0,72
	Ninfa	15	-0,39	3,47	2,93	4,02	0,94
	Adulto trampas	11	0,03	2,12	0	5,08	0,23
	Adulto golpeo	18	-0,83	3,71	2,66	4,75	0,78
Itapebí	Huevo	8	4,48	1,97	-2,28	6,23	0,18
	Ninfa	10	-0,64	4,93	4,53	5,33	0,99
	Adulto trampas	21	-7,88	9	7,02	10,98	0,83
	Adulto golpeo	21	-0,77	2,91	2,13	3,69	0,76

n número de pares de datos utilizados para estimar los parámetros de la regresión; a y α intercepto; b y β pendiente o coeficientes de agregación; Li límite inferior de 95% de confianza; Ls límite superior de 95% de confianza; R² coeficiente de determinación.

Veronezzi (2006) estudiando la agregación de los adultos de *D. citri* utilizando trampas adhesivas amarillas encontró que en parcelas con bajas poblaciones los coeficientes de agregación no fueron significativamente mayores a uno, tendiendo a una distribución aleatoria. Este autor menciona que sitios con altos niveles poblacionales presentaron coeficientes de agregación mayores a uno. Soemargono *et al.*(2008) estudiando la agregación de adultos de esta especie en brotes encontraron una distribución agregada en los mismos, con valores del coeficiente b de 1,30 y 1,56 para cítricos y *Murraya paniculata*, respectivamente.

Los coeficientes de agregación b para los estados inmaduros no mostraron diferencias significativas entre estados de desarrollo y sitios de muestreo (Cuadro 7). Por esta razón, los datos fueron analizados conjuntamente y fue calculado un único coeficiente de agregación

(Figura 10). El coeficiente b para los inmaduros resultó significativamente distinto y mayor a uno (t observado= 13,8, $P < 0,0001$), evidenciando agregación de las poblaciones de inmaduros.

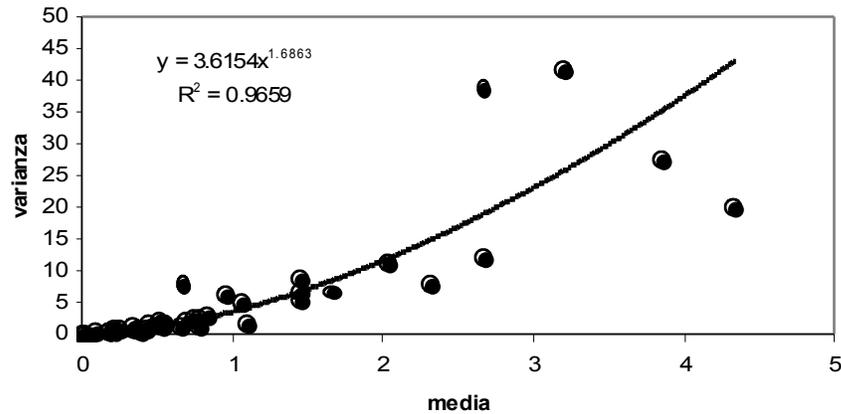


Figura 10. Representación gráfica de la Ley Potencial de Taylor para la agregación de inmaduros de *D. citri*.

Costa *et al.*(2010) encontraron que para las ninfas de *D. citri* el coeficiente b de la ley potencial de Taylor fue significativamente mayor a uno, variando entre 1,30 y 1,44.

4.5.2 Distribución de adultos e inmaduros en la planta en relación a los puntos cardinales

La abundancia de huevos, ninfas y adultos de *D. citri* no varió significativamente entre los cuadrantes de la planta (Cuadro 8). Esta situación fue similar en ambos sitios de muestreo. Estos resultados concuerdan con los reportados por Soemargono *et al.*(2008) y Dharajothi *et al.*(1989) para el psílido. Sin embargo, Sétamou *et al.*(2008) reportaron diferencias en la densidad de inmaduros de *D. citri* entre los puntos cardinales, los autores explican que las diferencias observadas podrían estar asociadas con la mayor exposición a la luz solar de algunas zonas del árbol, lo que induciría a brotaciones más abundantes.

Cuadro 8. Promedio e intervalos de confianza de adultos acumulados por cuadrante y árbol durante el período de estudio utilizando el método de golpeo.

Quebracho									
Punto	Adultos	Li	Ls	Huevos			Ninfas		
Cardinal				Li	Ls	Li	Ls	Li	Ls
SO	1,08	0,09	13,28	23,2	14,4	37,3	15,7	8,8	27,9
SE	1,64	0,21	12,56	20,4	12,3	33,8	9,7	4,7	20,2
NO	1,04	0,08	13,41	30,5	20,2	46,2	10,6	5,2	21,3
NE	1,36	0,15	12,72	18,3	10,7	31,2	13,6	7,3	25,2

Itapebí									
Punto	Adultos	Li	Ls	Huevos			Ninfas		
Cardinal				Li	Ls	Li	Ls	Li	Ls
SO	73,60	54,31	99,74	20,8	12,6	34,3	13,9	7,6	25,7
SE	53,84	37,74	76,81	19,8	11,8	33,0	16,4	9,4	28,9
NO	59,40	42,35	83,31	25,4	16,1	40,0	12,1	6,3	23,4
NE	67,24	48,93	92,41	30,8	20,4	46,5	12,9	6,8	24,3

SO: suroeste; SE: sureste; NO: noroeste; NE: noreste.

La selección de las muestras teniendo en cuenta los cuadrantes de la planta no sería un factor relevante a la hora de planificar los muestreos. Igualmente más estudios deben de realizarse, agregando otros estratos del árbol, como por ejemplo la parte superior e inferior de la canopia, ya que según lo reportado por Soemargono *et al.*(2008) la mitad superior de las plantas presentan una mayor abundancia del psílido.

4.6 BIBLIOGRAFIA

- Bernal R. 1991. *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) nuevo insecto detectado en montes cítricos en el área de Salto, Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Hoja de Divulgación. N° 25. 1p.
- Bové J. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*. 88(1): 7-37.
- Cadahia D. 1977. Repartición espacial de las poblaciones en Entomología aplicada. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas*. 3: 219-233.
- Comisión International de l'Eclairage. 1976. 18 th Session, London, England, Setember 1975. CIE Publication 36.

- Costa M, Barbosa J, Yamamoto P, Leal R. 2010. Spatial distribution of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in citrus orchards. *Scientia Agricola*. 67(5): 546-554.
- Davis P. 1994. Statical for describing populations. *En: Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*. Boca Raton, CRC Press. Pedigo, P.; Buntin, G. (eds.). pp. 33-54.
- Dharajothi B, Verghese A, Tandon P. 1989. Ecological studies on citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) with special reference to its spatial distribution and sampling plans. *Entomon*. 14(3) : 319-324.
- Grafton Cardwell E, Godfrey K, Rogers M, Childers C, Stansly P. 2006. Asian citrus psyllid. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 8205. 8p.
- Green R. 1970. On fixed precision level sequential sampling. *Res. Popul. Ecol*. 12: 249-251.
- Halbert, S. y Manjunath, K. 2004. Asian citrus psyllid (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*. 87(3): 330-353.
- Iwao, S. 1968. A new regression method for analyzing the aggregation pattern of animal populations. *Researches on Population Ecology*. 10: 1-20.
- Lloyd M. 1967. Mean crowding. *Journal of Animal Ecology*. 36: 1-30.
- Michaud J. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in Central Florida. *Biological Control*. 29: 260-269.
- SAS Institute Inc. 2007. SAS OnlineDoc® 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Sétamou M, Flores D, Frensil J, Hall D. 2008. Dispersion patterns and sampling plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Journal of Economic Entomology*. 101(4): 1478-1487.
- Soemargono A, Yusof I, Rohani I, Shamsudin M. 2008. Spatial dsitribution of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) on citrus and orange jasmine. *Journal of Bioscience*. 19(2): 9-19.
- Southwood T, Henderson. 2000. Ecological methods with particular reference to the study of insect populations. Chapman and Hall. Second Edition. London and New York. 524pp.

- Taylor L. 1984. Assessing and interpreting the spatial distribution of insect populations. Annual Review of Entomology. 29: 321-357.
- Taylor L. 1961. Aggregation, variance and the mean. Nature. 189: 732-735
- Texeira D, Ayres A, Kitajima E, Tanaka F, Danet J, Jagoueix E, Saillard C, Bové J. 2005. First report of Huanglongbing- like disease of citrus in Sao Paulo state, Brazil, and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. Plant Disease. 89(1): 107.
- Tsai J, Wang J, Liu Y. 2000. Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange Jessamine in southern Florida. Florida Entomology. 83(4): 446-459.
- Veronezzi F. 2006. Distribuição especial e amostragem de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) na cultura de citros. Tesis de Maestría. Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil . Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 50p.
- Wang C. 1981. Ecological studies of Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* K) with special reference to its spatial distribution. Journal of Agricultural Research of China. 30(4): 412-419.

5. CONCLUSIONES

La detección de árboles infestados con adultos fue mayor utilizando el método de golpeo de ramas. Este resultado es de gran relevancia ya que en caso de que el HLB ingrese a nuestro país, la detección temprana del vector es fundamental para aplicar medidas de control tendientes a reducir la diseminación de la enfermedad. Por otro lado, todos los métodos fueron útiles para describir la tendencia en las fluctuaciones de las poblaciones del psílido en las condiciones de este estudio, aunque las trampas no fueron adecuadas para estimar la abundancia y la fluctuación en algunos períodos del año, particularmente durante el otoño.

La abundancia de las poblaciones de *D. citri* varió significativamente entre los sitios de muestreo. Los estados inmaduros fueron más abundantes en brotes pequeños de entre 2 y 5 cm de largo. Ésto determinará que al momento de realizar el monitoreo de los estados inmaduros sea conveniente tomar este tipo de brotes para estimar adecuadamente la abundancia de los mismos. Todos los períodos de brotación de los cítricos pueden ser afectados por el insecto y los adultos del vector se encuentran presentes durante todo el año. El control de las poblaciones del vector durante los períodos de brotación podría ser una estrategia de manejo ante una posible detección de la enfermedad en el país. De manera de evitar que las poblaciones del vector se incrementen sustancialmente, podría ser conveniente implementar acciones de control desde el primer período de brotación. El único parasitoide detectado fue *Tamarixia radiata*, con niveles de parasitismo escasos. Estudios más profundos acerca de los enemigos naturales que afectan las poblaciones del psílido son necesarios para el desarrollo e implementación de una estrategia de control biológico en nuestro país.

El coeficiente de agregación de la ley potencial de Taylor fue significativamente mayor a uno para los estados inmaduros, lo que indica una distribución agregada de las poblaciones, sin embargo para los adultos los coeficientes fueron distintos entre parcelas y métodos de monitoreo. En Quebracho los adultos presentaron una distribución aleatoria, mientras que en Itapebí agregada. En base a esto, más estudios son necesarios para determinar la agregación de los adultos y de esta forma definir planes de muestreo eficientes. La abundancia de adultos y

estados inmaduros no difirió entre los cuadrantes de la planta, por lo que no sería necesario tener en cuenta este factor al momento de realizar el monitoreo del insecto.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed S, Ahmad N, Khan R. 2004. Studies on Population Dynamics and Chemical Control of Citrus Psylla, *Diaphorina citri*. International Journal of Agriculture and Biology. 6(4): 970-973.
- Arredondo M. 2009. Abundant and population dynamic of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) as affected by flush shoot in different host plants. Tesis de maestría. Texas University, Kingsville. 78p.
- Asplanato G, Pazos J, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L. 2011. El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): primeros estudios bioecológicos en Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Serie FPTA N° 28. 48p.
- Asplanato G, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L. 2009. Fluctuación de las poblaciones y parasitismo. Serie de Actividades de Difusión N° 569. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Salto Grande. pp. 23-28.
- Aubert B, Hua X. 1990. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus and *Murraya* canopies. En: Proc. 4th International Asian Pacific Conference on Citrus Rehabilitations, Chiang Mai, Thailand, 4-10 February 1990. FAO- UNDP, Rome. Aubert, B.; Tontyaporn, S.; y Buangsuwon, D. (eds.). pp. 181-187.
- Aubert B, Quilici S. 1988. Monitoring adult psyllas on yellow traps in Reunion Island. En: Proceedings of the 10th Conference of International Organization of Citrus Virologists. International Organization of Citrus Virologists, Riverside, CA. Garnsey, S. M., Timmer, L. W. y Dodds, J. A. (eds.). pp. 249-254.
- Aubert B. 1987. *Trioza erytrae* y *Diaphorina citri*, the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. Fruits. 42: 149-162.
- Augier L, Gastaminza G, Lizondo M, Argañaraz M, Willink E. 2006. Presencia de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el Noroeste Argentino (NOA). Revista Sociedad Entomologica de Argentina. 65(3-4): 67-68.
- Bassanezi R, Montesino L., Busato L, Stuchi E. 2006. Damages caused by Huanglongbing on sweet orange yield and quality in Sao Paulo. En: Huanglongbing- Greening International Workshop, 2006, Riberão Preto. Resumo S17.

- Bernal R. 1991. *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) nuevo insecto detectado en montes cítricos en el área de Salto, Uruguay. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. Hoja de Divulgación. N° 25. 1p.
- Boina D, Meyer W, Onagbola E, Stelinski L. 2009. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) by immunomarking and potential impact of unmanaged groves on commercial citrus management. *Environmental Entomology*. 38(4): 1250-1258.
- Bové J. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*. 88(1): 7-37.
- Cáceres S, Aguirre A, Miño V, Almirón I, González E, Heredia F. 2008. Líneas de acción para implementar el manejo de *Diaphorina citri* en Corrientes. *En: Primera Reunión de Entomólogos dedicados al estudio del HLB y su insecto vector*. EEA INTA Bella Vista, Corrientes, Argentina. 17 y 18 de setiembre de 2008. Publicación Técnica N° 29. pp. 23-24.
- Cadahia D. 1977. Repartición espacial de las poblaciones en Entomología aplicada. *Bol. Ser. Plagas*. 3: 219-233.
- Catling HD. 1972. Factors regulating populations of psyllid vectors of greening, p. 51-57. *En: Proc. 5th Conf. IOCV., Univ, Calif., Div. Agr. Sci., Richmond*.
- Catling HD. 1970. Distribution of psyllid vectors of citrus huanglongbing disease with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. *Plant Prot. Bull.* 18: 8-15.
- Cermeli I. 2000. Presencia del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. *Boletín de Entomología Venezolana*. 15(2): 235-243.
- Chavan JM, Summanwar AS. 1993. Populations dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw., in Maharashtra. *En: Proceed. 12th IOCV Conference*. Moreno, De Graça & Timmer (eds.). pp 286-290.
- Chu Y, Chien C. 1991. Utilization of natural enemies to control of psyllid vectors transmitting citrus greening. *En: Integrated control of Plant Virus Diseases Food and Fertilizer Technology Center of the Asian and Pacific Region*. Taipei, Taiwán. K. Kirimati, H. J. Su, and Y. I. Chu, (eds.). pp.135-145.
- Comisión Internacional de l'Eclairage. 1976. 18 th Session, London, England, Setember 1975. CIE Publication 36.

- Coletta-Filho H, Tragón M, Takita M, De Negri J, Pompeu J, Machado M. 2004. First report of the causal agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. *Plant Disease*. 88: 1382.
- Costa Lima AM. 1942. Hompteros. Insetos do Brasil. Escola Nacional do Agronomía, Río Janeiro, Brasil. 327pp.
- Costa M, Barbosa J, Yamamoto P, Leal R. 2010. Spatial distribution of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in citrus orchards. *Sci. Agr.* 67(5): 546-554.
- Davis P. 1994. Statical for describing populations. En: Pedigo, P.; Buntin, G. (eds.). *Handbook of sampling methods for arthropods in agriculture*. Boca Raton, CRC Press. 33-54.
- Dharajothi B, Verghese A, Tandon P. 1989. Ecological Studies on citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) with special reference to its spatial distribution and sampling plans. *Entomon.* 14 (3): 319-324.
- Di Rienzo JA., Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Étienne J, Quilici S, Marival D, Franck A. 2001. Biological control of *Diaphorina citri* in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata*. *Fruits*. 56: 307-315.
- European Plant Protection Organization. 2005. *Diaphorina citri*, EPPO Bulletin. 35 (2): 331-333.
- Fernández M, Miranda I. 2005. Comportamiento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Parte I: Características morfológicas, incidencia y enemigos naturales asociados. *Revista Protección Vegetal*. 20 (1): 27-31.
- French J, Kahlke C, Graça D. 2001. First record of the Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homptera: Psyllidae), in Texas. *Subtropical Plant Science*. 53: 14-15.
- Fundectirus. 2009. Manual de greening. 12p. Disponible en: <http://www.fundecitrus.com.br/Pagina/Manuais-tecnicos.21>.
- Fundecitrus. 2004. Manual de greening. 12p. Disponible en: <http://fundecitrus.com.br/manuais>.
- Gillespiei D, Vernonz R. 1990. Trap catch of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) as affected by color and height of sticky traps in mature greenhouse cucumber crops. *Journal of Economic Entomology*. 83 (3): 971-975.

- Graça J. 2010. Etiology, history and world situation of citrus Huanglongbing. En: 2º Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos. 19-23 Julio, 2010. Mérida, Yucatán. Pag. 2-7.
- Grafton-Cardwell E, Godfrey K, Rogers M, Childers C, Stansly P. 2006. Asian citrus psyllid. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 8205. 8p.
- Green R. 1970. On fixed precision level sequential sampling. Res. Popul. Ecol. 12: 249-251.
- Halbert S. 2005. The discovery of Huanglongbing in Florida. En: Proc. of 2nd International citrus canker and Huanglongbing research workshop. Florida Citrus Mutual. Orlando, Florida. Pag. 3.
- Halbert S y Manjunath K. 2004. Asian citrus psyllid (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist. 87(3): 330-353.
- Halbert SE y Núñez CA. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the caribbean basin. Florida. Entomologist. 87 (3): 401-402.
- Hall D, Hentz M. 2010. Sticky Trap and Stem–Tap Sampling Protocols for the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae). Journal of Economic. Entomology. 103(2): 541-549.
- Hall D, Sétamou M, Mizell R. 2010. A comparison of sticky traps for monitoring Asian Citrus Psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). Crop Protection. Artículo en prensa.
- Hall D. 2009. An assessment of yellow sticky card traps as indicators of the abundance of adult *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. Journal of. Economic. Entomology. 102(1): 446-452.
- Hall D. 2008. Effects of Freezes on Survival of *Diaphorina citri*. En: International Research Conference on huanglongbing. Orlando, Florida, EEUU. Diciembre, 2008. 192-193.
- Hall D, Hentz M, Adair R. 2008. Population Ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. Environmental. Entomology. 37 (4): 914-924.
- Hall D, Hentz M, Adair R, Ciomperlik M. 2007. A comparison of traps and stem tap sampling for monitoring adult asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. Florida Entomologist. 90(2): 327-334.

- Horton D, Lewis T. 1997. Quantitative relationship between sticky trap catch and beat tray counts of pear psylla (Homoptera: Psyllidae): seasonal, sex and morphotypic effects. *Journal of Economic Entomology*. 90: 170-177.
- Hoy M, Nguyen R. 2000. Classical biological control of Asian citrus psylla- update on *Tamarixia radiata* releases and first releases of *Diaphorencyrtus aligarhensis*. Consultada octubre 2009. Disponible en: http://biocontrol.ifas.uX.edu/ctgysrch/citrus/Asp_hoy2.htm.
- Iwao S. 1968. A new regression method for analyzing the aggregation pattern of animal populations. *Research Population Ecology*. 10: 1-20.
- Jagoueix S, Bové J, Garnier M. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the Proteobacteria. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 44: 379- 386.
- Jepson S. 2008. Citrus greening disease. Oregon State University. Extension Service. 3p.
- Knapp J, Halbert S, Lee R, Hoy M, Clarck R, Kesinger M. 2006. The asian citrus psyllid and citrus greening disease. Consultada en octubre 2010. Disponible en: <http://ipm.ifas.ufl.edu/agriculture/citrus/asian.shtml>.
- Kobori Y, Nakata T, Ohto Y, Takasu F. 2011. Dispersal of adult Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), the vector of citrus greening disease, in artificial release experiments. *Applied Entomology and Zoology*. 46: 27-30.
- Liu YH y Tsai JH. 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Annual Applied of Biology*. 137: 201-206.
- Lloyd M. 1967. Mean crowding. *Journal of Animal Ecology*. 36: 1-30.
- McFarland CD, 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 temperatures regimes. *Florida Entomologist*. 84: 227-233.
- Mead FW. 1977. The Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Entomology Circular*. Nº 180. Florida Department of Agricultural and Consumer Service, Division of Plant Industry, Gainesville, Florida. 4pp.

- Meyer J, Hoy M, Boucias D. 2007. Morphological and molecular characterization of a *Hirsutella* species infecting the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in Florida. *Journal of Invertebrate Pathology*. 95: 101–109.
- Michaud JP. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in Central Florida. *Biological Control*. 29: 260-269.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Económicas Agropecuarias. 2009. Encuesta citrícola “Primavera 2008”. Serie de Encuestas. Nº 271. 26 p.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Económicas Agropecuarias. 2003. La citricultura en Uruguay. Contribución a su conocimiento. 31p.
- Nava DE, Torres ML, Rodríguez MD, Bento JM, Parra JR. 2007. Biology of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) on different hosts and different temperatures. *Journal Applied of Entomology*. 131(9-10): 709-715.
- Netha Y. 2008. Effect of host plant on the bionomics of asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Tesis de maestría. Texas University, Kingsville. 75p.
- Parra J, Gómez Torres M, Paiva P. 2007. Eficiencia do parasitoide *Tamarixia radiata* para o controle biológico do psilideo *Diaphorina citri* em Sao Paulo. *Citricultura Atual*. 61: 18-19.
- Parra JR, Nava DE, Gómez Torres MI. 2006. Biology and rearing techniques for the biological control of *Diaphorina citri*. *En: Proceedings of the Huanglongbing – greening International Workshop*. 16 al 20 de jul, 2006. Riberaô Preto, SP, Brasil. p. 31.
- Patt J, Sétamou M. 2010. Responses of asian citrus psyllid to volatiles emitted by the flushing shoots of its Rutaceous host plants. *Environmental Entomology*. 39(2): 618-624.
- Pluke RW, Quereshi JA, Stansly PA. 2008. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist*. 91: 36-41.
- Pluke RW, Escribano A, Michaud JP, Stansly PA. 2005. Potential impacto f Ladybeetles on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist* 88(2): 123-128.
- Quereshi J, Stansly P. 2009. Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. *Biological Control* 50: 129–136.

- Regmi C, Lama T. Greening incidence and greening vector population dynamic in Pokhara. *En: Diseases induced by prokaryotic pathogens. Tenth IOCV Conference. 238-242.*
- Rubio L, Buenahora J, Amuedo S, Asplanato G. 2009. Evaluación de distintas técnicas de muestreo para adultos y estados inmaduros de *D. citri*. *En: Serie de actividades de difusión n° 569. INIA Salto Grande. Uruguay. 4pp.*
- SAS Institute Inc. 2007. SAS OnlineDoc® 9.2. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schowalter T. 2006. Insect ecology: an ecosystem approach. Segunda Edición. 572pp.
- Sechler A, Schuenzel E, Cooke P, Donnua S, Thaveechai N, Postnikova E, Stone A, Schneider W, Damsteegt V, Schaad N. 2009. Cultivation of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”, “*Ca. L. africanus*”, and “*Ca. L. americanus*” associated with Huanglongbing. *Phytopathology. 99: 480-486.*
- Sétamou M, Flores D, Frensil J, Hall D. 2008. Dispersion patterns and sampling plans for *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in citrus. *Journal of Economic Entomology. 101 (4): 1478-1487.*
- Soemargono A, Yusof I, Rohani I, Shamsudin M. 2008. Spatial dsitribution of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) on citrus and orange jasmine. *Journal of Bioscience. 19(2): 9-19.*
- Southwood T, Henderson. 2000. Ecological methods with particular reference to the study of insect populations. Chapman and Hall. Second Edition. London and New York. 524pp.
- United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2010a. National Quarantine: Citrus Greening and Asian Citrus Psyllid. Plant Health. Consultada Junio 2010. Disponible en: http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus_greening/downloads/pdf_files/c-a-az-map.pdf.
- United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2010b. Citrus Greening - Regulatory Updates. Plant Health. Consultada Junio 2010. Disponible en: http://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/citrus_greening/regs.shtml.
- United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2009a. Confirmation of Citrus Greening (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), in Charleston County,

- South Carolina, United States. Consultada julio 2010. Disponible en: <http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=3738keyword=huanglongbing>.
- United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2009b. Confirmation of Citrus Greening (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), in Chatham County, Georgia, United States. Consultada julio 2010. Disponible en: <http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=3828keyword=huanglongbing>.
- United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2009c. Confirmation of Citrus Greening (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), in Chatham County, Georgia, United States. Consultada julio 2010. Disponible en: <http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=3828keyword=huanglongbing>.
- United States Department of Agriculture. Animal and Plant Health Inspection Service. 2008. Confirmation of Huanglongbing or Citrus Greening (*Candidatus Liberibacter asiaticus*), in Lousianan, United States. Consultada Julio de 2010. Disponible en: <http://www.pestalert.org/oprDetail.cfm?oprID=3218keyword=huanglongbing>
- United States Department of Agriculture/Animal and Plant Health Inspection Service. 2005. First detection of Citrus Greening, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, in the United States. Consultada julio 2010. Disponible en: <http://www.pestalert.org/viewArchStory.cfm?nid=3538keyword=huanglongbing>
- Surfer Demo Version 9.1.352. April 8 2009. Surface Mapping System. Copyright © 1993-2009, Golden, Software, Inc.
- Taylor LR. 1984. Assessing and interpreting the spatial distribution of insect populations. Annual Review of Entomology. 29: 321-357.
- Taylor LR. 1961. Aggregation, variance and the mean. Nature. 189: 732-735.
- Texeira D, Ayres A, Kitajima E, Tanaka F, Danet J, Jagoueix E, Saillard C, Bové J. 2005. First report of Huanglongbing- like disease of citrus in Sao Paulo state, Brazil, and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. Plant Disease. 89: 107.
- Tsai JH, Wang J, Liu YH. 2002. Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. Florida Entomologist. 85(3): 446-451.

- Tsai JH, Wang J, Liu YH. 2000. Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange Jessamine in southern Florida. *Florida Entomologist*. 83(4): 446-459.
- Veronezzi F. 2006. Distribuição especial e amostragem de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) na cultura de citros. Tesis Mestre. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, Sao Paulo, Brasil. 50p.
- Wang C. 1981. Ecological studies of Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* K.) with special reference to its spatial distribution. *Journal of Agricultural Research of China*. 30(4): 412-419.
- Wenninger EJ, Hall DG, Mankin RW. 2009. Vibrational communication between the sexes in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Annals of Entomologic. Society of America*. 102(3): 547-555.
- Wenninger EJ, Stelinski LL, Hall DG. 2008a. Behavioral evidence for a female- produced sex attractant in *Diaphorina citri*. *Entomologia Experimentales et Applicata*. 128: 450-459.
- Wenninger EJ, Hall DG. 2008b. Importance of multiple mating to female reproductive output in *Diaphorina citri*. *Physiology Entomology*. 33(4): 316-321.
- Wenninger EJ, Hall DG. 2008c. Daily and seasonal dynamics in abdomen color in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Annals Entomologic Society.of America*. 101(3): 585-592.
- Wenninger EJ, Hall DG. 2007. Daily timing of and age at mating in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Florida. Entomolist*. 90: 715-722.
- Yamamoto P, Felipe M, Garbim L, Coelho J, Ximenes N, Martins E, Leite A, Sousa M, Abrahão D, Braz J. 2006. *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. *En: Proc. of the Huanglongbing-Greening Intl. Workshop, 2006, Ribeirão Preto, Brazil*. p. 96.
- Yamamoto P, Paiva P, Gravena S. 2001. Flutuação populacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en pomares de citros na regioao norte do estado de Sao Paulo. *Neotropical Entomology*. 30(1): 165-170.
- Yang Y, Huang M, Andrew G, Beattie C, Xia Y, Ouyang G, Xiong J. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: A status report for China. *International Journal of Pest Management*. 52(4): 343-352.