

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE AGRONOMÍA

BIOLOGÍA DE *Cirrospilus neotropicus* Diez y Fidalgo (HYMENOPTERA:  
EULOPHIDAE), PARASITOIDE AUTÓCTONO DE *Phyllocnistis citrella* Stainton  
(LEPIDOPTERA: GRACILARIIDAE)

por

Soledad Noris AMUEDO SENA  
Gabriela Edina PRIETO RUIZ

TESIS presentada como uno de  
los requisitos para obtener el  
título de Ingeniero Agrónomo.

MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2006

## PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis aprobada por:

Director:

-----  
Ing. Agr. Gabriela Asplanato

-----  
Lic. Carlos Bentancourt

-----  
Ing. Agr. José Buenahora

Fecha:

-----

Autor:

-----  
Soledad Amuedo Sena

-----  
Gabriela Prieto Ruiz

## **AGRADECIMIENTOS**

Al tribunal, Ing. Agr. Gabriela Asplanato, Lic. Carlos Bentancourt e Ing. Agr. José Buenahora.

A nuestras compañeros de la cátedra de Entomología, especialmente a la Ing. Agr. Noelia Casco y Lic. Leticia Bao.

Al Ing. Agr. Oscar Bentancur por la ayuda brindada en el procesamiento estadístico de los datos.

Al personal de Biblioteca, en especial a la Lic. Sully Toledo.

A los productores y técnicos responsables de cada uno de los establecimientos donde se realizó el trabajo.

Y muy especialmente a nuestras familias.

Gracias.

## **TABLA DE CONTENIDO**

PAGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	IV

## **LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES**

**CUADRO N°**

**FIGURA N°**



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1 LA PRODUCCIÓN CITRÍCOLA EN URUGUAY**

El rubro cítrico tiene un fuerte impacto social y económico para el país. Es un sector exportador en expansión, siendo además el de mayor importancia dentro del área hortifrutícola del país. En el año 2000 representaba el 3% del VBP agropecuario (MGAP. DIEA, 2003).

El sector cítrico está compuesto hoy por unas 21.000 hectáreas (15.000 efectivas). Representa el 0,1% de la superficie nacional. En el año 2000, el total de plantas era 6,5 millones de las cuales el 90% estaban en producción (MGAP. DIEA, 2003).

Existen 479 establecimientos de más de 350 plantas, distribuidos en el país. El cultivo está concentrado en dos zonas. La región Noroeste, es la más extensa, que abarca los departamentos de Salto, Paysandú, Río Negro y parte de Rivera. El 76% de las explotaciones y el 83% de la producción del año 2000 provienen de esta zona. La zona sur, abarca los departamentos de Montevideo, San José, Canelones, Colonia y Maldonado (MGAP. DIEA, 2003).

En la zona norte se producen principalmente naranjas que aportan el 55% de la producción de la región, seguida por mandarinas a las que corresponde el 33%. El 12% restante se distribuye entre limones, pomelos y otras especies minoritarias (MGAP. DIEA, 2003).

La zona sur es predominantemente limonera (59% de la producción), con una tendencia creciente a diversificar el espectro de variedades cultivadas. La fuerte presencia de limoneros se explica por su rusticidad y la buena adaptación a las condiciones ecológicas de la zona (MGAP. DIEA, 2003).

Hasta finales de la década del 90 el sector cítrico en el Uruguay había tenido un importante desarrollo, con el principal objetivo de producir fruta fresca de exportación. En los últimos años el impulso que había caracterizado al sector se detuvo, determinando una caída relativa de la producción y las exportaciones. De hecho, los volúmenes de fruta producida a partir del año 1998 tuvieron fluctuaciones anuales que incluyen caídas muy importantes revirtiendo la tendencia creciente de la producción que se había mantenido hasta ese año. Las explicaciones de estas variaciones se fundamentan principalmente en el impacto negativo del clima, no solo en los resultados productivos directos sino en las condiciones ambientales para la diseminación de enfermedades, particularmente del cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv *citri*). En este sentido, las condiciones climáticas favorables al desarrollo de la bacteria, conjuntamente con la llegada del minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*) condujeron a un notorio aumento del número de plantas afectadas a nivel nacional (MGAP. DIEA, 2003).

## 1.2 IMPORTANCIA DEL MINADOR DE LOS CÍTRICOS EN URUGUAY

El minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) se detectó en Uruguay en enero de 1997 en la zona norte y en febrero del mismo año en el sur. Actualmente es considerada una de las principales plagas de los cítricos, causando daños directos e indirectos (Asplanato *et al.*, 2004).

Los daños directos son provocados por las larvas que realizan galerías en las hojas tiernas, lo cual ocasiona pérdida de área foliar y consecuentemente una reducción de la tasa fotosintética (García Marí *et al.*, 1997).

El daño indirecto se refiere a la mayor incidencia del cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*. Las galerías son una vía de ingreso para la bacteria, y además en ellas se dan condiciones de temperatura y humedad favorables al desarrollo de la enfermedad (Chagas *et al.*, 2001). A partir de 1997, con la aparición del minador de los cítricos y las condiciones climáticas particulares para el

desarrollo del cancro cítrico, se constató un aumento en la incidencia y dispersión de la enfermedad en la zona norte del país, que llevó a evaluar una nueva estrategia en el programa de control (Otero *et al.*, 2005).

El cancro cítrico es el problema sanitario más serio para este cultivo en el país siendo una limitante para la exportación de frutas cítricas a algunos mercados (Scatoni *et al.*, 2000). En el año 1998 la Unión Europea establece un cambio en sus requisitos fitosanitarios que definen la necesidad de diseñar un sistema de certificación para la fruta de exportación (Otero *et al.*, 2005).

El control químico de *P. citrella* presenta numerosos problemas asociados a la propia biología del insecto, como ser sus hábitos minadores, el desarrollo sobre brotes en crecimiento y el número elevado de generaciones que presenta. Por otro lado, se ha detectado resistencia de las poblaciones a determinados productos químicos (Smith y Hoy 1995, Knapp *et al.* 1995).

Un método de control que se considera apropiado para plagas recientemente introducidas es el de Control Biológico Clásico, el cual se ha aplicado en casi todas las áreas cítricas invadidas por el minador (Argov y Rössler 1996 y 1998, Hoy y Nguyen 1997, Pomerinke y Stansley 1998, Willink *et al.* 1999, Vercher *et al.* 2000, Asplanato *et al.* 2005).

Ante esta problemática, en el país se llevan adelante desde 1997 hasta el presente, programas de investigación que contribuyan al desarrollo del manejo integrado de *P. citrella* en el cultivo (Asplanato *et al.*, 2005).

En el año 2000 se lleva a cabo la primera experiencia de control biológico aplicado del minador de los cítricos con la introducción del enemigo natural exótico *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae). Este parasitoide mostró problemas de adaptación en la zona sur, no logrando sobrevivir a las condiciones de los inviernos más rigurosos (Buenahora *et al.*, 2004). En la zona norte, en las temporadas

2004-2005 y 2005-2006 se ha recuperado *A. citricola* con posterioridad al invierno, considerando que las condiciones del ultimo invierno no fueron tan rigurosas (Buenahora, 2006 com. pers.).

Durante la dispersión del minador de los cítricos por el mundo, se encontraron enemigos naturales que se adaptaron al nuevo hospedero. En nuestro país se realizaron relevamientos de especies autóctonas y se determinó que el parasitoide predominante es *Cirrospilus* sp. C (Hymenoptera: Eulophidae) (Asplanato *et al.*,2004), actualmente descrito como *Cirrospilus neotropicus* (Diez y Fidalgo, 2003).

### 1.3 OBJETIVOS

Por lo anterior, conocer el ciclo de vida de *C. neotropicus* a diferentes temperaturas en condiciones controladas sería un primer aporte para explicar su comportamiento y mejorar su acción a nivel de campo. Además la información que surja de estos estudios puede ser utilizada para programar crías masivas del parasitoide y su posterior utilización en el control biológico de *P. citrella*.

El objetivo de este trabajo es estudiar la biología de *C. neotropicus* en condiciones de laboratorio y el parasitismo a campo. Se pretende estudiar la duración del ciclo de vida y algunos parámetros reproductivos en condiciones de laboratorio, y determinar el nivel de parasitismo a campo en parcelas de la zona sur del país.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### 2.1 ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE *Phyllocnistis citrella*.

*P. citrella* es una de las plagas más importantes del cultivo y de otras especies de rutáceas (Knapp *et al.*, 1995). Esta especie fue descrita por primera vez en Calcuta, India, sobre *Citrus* spp. por Stainton en 1856 (Knapp *et al.*, 1995), aunque no fue citada como plaga hasta 1960 en Corea. No se conoce con exactitud el origen del minador de las hojas de los cítricos, pero dado que *Citrus* spp. y otras rutáceas son sus huéspedes naturales, se podría asumir que su lugar de origen es el de sus huéspedes, sudeste asiático (Hoy y Nguyen, 1997).

La expansión del minador desde el continente asiático fue lenta hasta 1993. A partir de entonces, y en poco tiempo, la distribución del minador de los cítricos sufrió importantes cambios. En la actualidad existen muy pocas regiones donde se cultivan cítricos en las que su presencia no haya sido constatada (Knapp *et al.* 1995, Hoy y Nguyen 1997).

De modo que se podrían identificar dos fases en la expansión del minador: una primera que se produjo en forma lenta y continua, afectando los continentes de África, Oceanía y parte de Asia, y una segunda que comienza a partir de 1993, caracterizada por la rápida invasión o reinvasión en varios puntos distantes entre sí y de forma casi simultánea, de manera que en un corto período de tiempo se expande a las áreas citrícolas de América y la zona mediterránea (Knapp *et al.* 1995, Hoy y Nguyen 1997).

En el año 1991 se detecta en el sureste de Australia y en 1993 en Sudáfrica, Florida (EEUU) y España (Knapp *et al.* 1995, García Marí *et al.* 1997b). En 1994, se lo detecta en Puerto Rico, República Dominicana y el resto de América Central; en

Italia, Argelia, Israel, Marruecos, Jordania y Egipto (Knapp *et al.* 1995, Argov y Rössler 1996).

En 1996 en su rápido avance hacia el sur de América, se detecta su presencia en Brasil (Milano, 2002) y Argentina (García Marí *et al.* 1997b, Willink *et al.* 1996, 1998 y 1999, Segade 2003). En el mes de enero de 1997 se lo registra en Uruguay, en los departamentos de Salto y Paysandú y en febrero en la zona sur (Asplanato *et al.*, 2004 ).

Las últimas zonas cítrícolas invadidas por el minador de las hojas de los cítricos fueron Chile y California (EEUU). En California (EEUU) se lo encuentra en enero de 2000 en el condado Imperial, adyacente con la frontera de México, en la actualidad puede ser encontrado desde los condados de Whinterhaven hasta Niland (Godfrey y Grafton, 2002).

Pocas plagas han tenido una expansión tan grande y han creado tanto desconcierto en un período de tiempo tan corto. La utilización de barreras de cuarentena tuvieron muy poco efecto en la disminución de la propagación de esta plaga a nivel mundial (Hoy y Nguyen,1997).

No se conocen con exactitud las causas de la segunda expansión (García Marí, *et al.* 1997b). Algunas de la razones que podrían explicarla serían: posee altas tasas de reproducción, es multivoltina, puede haber sido transportada fácilmente tanto en material de vivero como en plantas adultas, gran capacidad de adaptación a una amplia diversidad de climas y microclimas, y posiblemente los adultos de minador tengan una alta facilidad de dispersión (Hoy y Nguyen 1997, García Marí *et al.* 1997b, Knapp *et al.* 1995).

Para Vázquez *et al.* (1997), la diseminación del minador de los cítricos se explica por tres vías fundamentales: mediante el traslado de posturas o material vegetal desde las áreas infestadas, la existencia de plantas hospedantes

ininterrumpidamente en zonas cercanas a los focos y por el movimiento de los adultos, favorecidos por corrientes de aire superficiales, así como vehículos y otros.

## 2.2 BIOLOGÍA Y HÁBITOS DE *Phyllocnistis citrella*

Es un microlepidóptero, perteneciente a la familia Gracillariidae. El huevo mide 0,3 mm de largo, es translúcido y convexo. La duración del desarrollo embrionario varía de 2 a 10 días. La larva presenta cuatro estadios, todos se desarrollan dentro de la hoja. La larva de primer estadio es de color blanquecino, de 1 a 2 mm de largo y la del último estadio (L4) de color amarillento, mide 4 mm. La duración del desarrollo larvario varía entre 5 y 20 días. La larva al final de su desarrollo construye una cámara generalmente en el borde de la hoja, donde pupa. La duración del estado de pupa varía entre 6 y 22 días (Knapp *et al.* 1995, Margaix y Garrido 2000, Margaix *et al.* 2000, Sánchez *et al.* 2002).

El adulto presenta dos pares de alas membranosas, estrechas y plumosas, de color blanco a plateado, con pelos oscuros distribuidos transversalmente y longitudinalmente. En la región apical, las alas anteriores presentan un punto oscuro, característico de la especie. Mide aproximadamente 4 a 5 mm de expansión alar y 2 a 2,5 mm de largo. Las hembras son de mayor tamaño que los machos (Heppner 1993, Garijo y García 1994, Knapp *et al.* 1995, Sánchez *et al.* 2002).

Estos microlepidópteros son activos principalmente en el crepúsculo. La cópula se produce 12 a 24 horas después de la emergencia de los adultos, la oviposición comienza poco después. La postura es de forma individual en brotes y hojas en expansión, menores a 50 mm de longitud (Knapp *et al.* 1995, Sánchez *et al.* 2002).

Estudios realizados sobre las dinámicas de las poblaciones del minador de los cítricos en Uruguay, permitieron determinar que la brotación de primavera no es afectada, las poblaciones del minador son altas en general a partir de diciembre en la zona norte y enero en la zona sur. La mayor incidencia y severidad en el daño se

observa en las brotaciones de verano y otoño en la zona norte y en otoño en la zona sur (Scatoni *et al.* 1999, Asplanato *et al.* 2004 y 2005).

En limonero, el 80 % de la población de larvas de primer estadio se encuentra en hojas menores a 50 mm de longitud, no lignificadas, de color rojizo. Mientras que más del 75 % de las pupas se encuentran en hojas mayores a 50 mm de largo. Con respecto a los estadios larvario estos son más avanzados en hojas de mayor tamaño (Scatoni *et al.*, 1999).

### 2.3 HOSPEDEROS Y DAÑOS DE *Phyllocnistis citrella*

*P. citrella* se cita principalmente en plantas de la familia Rutaceae, especialmente las del genero *Citrus* spp. También puede ser encontrada en plantas de las familias: Oleaceae, Loranthaceae, Leguminosae y Lauraceae (Heppner, 1993).

Los daños directos causados por el minador de los cítricos son, principalmente la reducción de la tasa fotosintética, debido a la pérdida de superficie foliar. Esta se produce por la alimentación de la larva en la hoja y porque el daño producido causa una temprana abscisión de las hojas adultas (García Marí *et al.* 1997b, 2002).

Las larvas son las causantes de estos daños al realizar galerías en las hojas sobre brotes tiernos (Figuras 1b), tanto en el envés como el haz, y con frecuencia afectan los tallos de los mismos. En ocasiones cuando los niveles poblacionales son muy elevados y las brotaciones son escasas, pueden llegar a dañar frutos. Las larvas, en éste caso no completan su desarrollo (Heppner, 1995).

Las galerías producidas evolucionan en longitud y grosor con el desarrollo de las larvas. Se ha encontrado una relación entre el número de galerías, el porcentaje de superficie foliar dañada y la longitud de la hoja. Esta relación se ve afectada por la

temperatura, cuando ésta es alta la larva del minador crece más rápido que la hoja y el daño es mayor (García Marí *et al.*, 1997b).

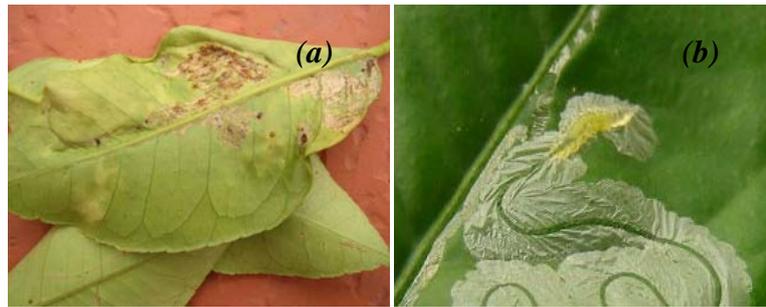
El daño inicial en el tejido de la hoja, provocado por la larva, se limita a las células de la epidermis (Achor *et al.*, 1997). Consiste en la separación entre la epidermis y el parénquima que es ocupada por aire y excrementos del insecto. Esas bolsas de aire dan un brillo característico a las hojas afectadas (Garijo y García, 1994).

Los mayores perjuicios ocurren en cítricos sobre todo en plantas de vivero, cultivos recién implantados y plantas reinjertadas (García Marí *et al.* 1997b). La muerte de plantas de vivero ha sido reportada por Ebeling (1959) y Heppner (1993). Estos daños directos, causan una disminución en el vigor de la planta, y en la consiguiente futura producción (Garijo y García 1994, Peña *et al.* 1996). Según otros autores, en plantaciones adultas estos daños no son importantes y no afectan la producción (González 1995, García Marí *et al.* 1997b, 2002).

El daño producido por la larva en la hoja, puede ser un medio ideal para las infecciones causadas por organismos patógenos, si se originan antes de que se forme una nueva capa protectora sobre la galería (Achor *et al.*, 1997). Un organismo patógeno que se ve favorecido por el daño del minador es *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*. Existe evidencia de que los daños producidos por el minador contribuyen a una mayor incidencia del cancro cítrico (Cook 1988, Chagas y Parra 2000, Chagas *et al.* 2001, Christiano 2003) (Figura 1a).

Las galerías son una vía de ingreso para la bacteria, asimismo en su interior se dan condiciones de temperatura y humedad relativa favorables para el desarrollo de la enfermedad (Willink *et al.* 1999, Chagas *et al.* 2001). La severidad de la enfermedad está relacionada con el tamaño de la galería, que a su vez está relacionado con el estadio larvario del minador (Christiano, 2003). Los adultos del

minador de los cítricos no son eficientes vectores de la enfermedad (Belasque *et al.*, 2005).



**Figura 1:** (a) Síntomas de cancro cítrico en las galerías del minador de los cítricos. (b) larva de tercer estadio de *P. citrella*.

La presencia del minador de los cítricos puede provocar un cambio en la importancia que hasta ahora han tenido otras plagas. En España, una plaga que se ha visto favorecida por la presencia del minador ha sido, <sup>(b)</sup>*Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae), ya que en las hojas enrolladas por el minador, ha encontrado un lugar ideal para desarrollarse y refugiarse (Garrido, 1996).

#### 2.4 CONTROL DE *Phyllocnistis citrella*

Algunas características del minador como ser su estrecha asociación a tejidos vegetales en crecimiento, los hábitos minadores de las larvas, el elevado número de generaciones por año y la superposición de éstas; le confieren atributos que hacen difícil el éxito de algunas estrategias de control (Asplanato *et al.*, 2004). Los métodos de control del minador incluyen: cultural, químico y biológico.

Las medidas culturales deben estar encaminadas a conseguir pocas brotaciones y muy intensas (Garijo y García, 1994). Comúnmente consisten en: la eliminación de “chupones”, la regulación de los riegos y la fertilización, entre otros (Garijo y García 1994, Knapp *et. al* 1995).

La eficacia en el control químico del minador, depende directamente de la homogeneidad en la brotación de las plantas, del momento de aplicación y del ingrediente activo empleado (Raga, 2000). La efectividad de las aplicaciones de algunos insecticidas se ve limitada por la escasa habilidad de penetración a la cutícula de la hoja, el corto período residual, el número de brotaciones, la rapidez de crecimiento de las mismas y la propia biología de la plaga (Knapp *et. al*, 1995). El control químico con insecticidas en reiteradas aplicaciones tiene como consecuencias: problemas de resistencia, contaminación ambiental, presencia de residuos en los frutos y disturbios en las poblaciones de organismos benéficos (Ripollés, 1997).

*P. citrella* se puede considerar como un excelente candidato para ser controlado de forma biológica. El hecho de que en las nuevas zonas de expansión hayan aparecido un número importante de parasitoides autóctonos atacando a la nueva plaga aporta evidencias de que la biodiversidad es un elemento importante como factor de control biológico (Schauff *et al.*, 1998).

#### 2.4.1 Control biológico

El control biológico aparece como la herramienta más apropiada a desarrollar y un componente imprescindible del manejo integrado del minador de los cítricos (Asplanato *et al.*, 2005).

El control biológico puede dividirse en dos grandes ramas: control biológico natural y control biológico aplicado. El control biológico natural es la acción reguladora que ejercen los enemigos naturales en el contexto del control natural; considerando solo el concepto ecológico de la regulación natural. El control biológico aplicado es la estrategia que utiliza a los enemigos naturales de la plaga con el propósito de reducir su abundancia a niveles en los que no cause pérdidas económicas (De Bach 1979, Botto 2002).

Ante la aparición en una zona de una plaga introducida el método que se ha mostrado más eficaz ha sido el de la introducción de enemigos naturales procedentes de la zona originaria de dicha plaga (García Marí *et al.*, 1997b). Es fundamental en el control biológico clásico que los parasitoides específicos que serán introducidos en una región, deben ser colectados en regiones con climas similares a la que serán introducidos (Hoy y Nguyen, 1997).

#### 2.4.1.1 Control biológico natural

El número total de parasitoides ha aumentado desde que se inició la expansión rápida del minador. En 1993 Heppner cita 30 especies distintas de parasitoides sobre el minador, mientras que Schauff *et al.* en 1998, citan 90 especies de chalcidoideos, repartidos en 6 familias, que han sido identificadas como parasitoides del minador. Estas especies están por todo el mundo, incluyendo las nuevas áreas colonizadas en los últimos años.

Las 6 familias identificadas por Schauff *et al.* (1998) fueron: Eulophidae, Elasmidae, Encyrtidae, Eupelmidae, Eurytomidae y Pteromalidae. La familia Eulophidae es la más numerosa, con 33 géneros identificados. Entre los géneros de eulófidos más comunes se encuentran: *Cirrospilus*, *Semielacher*, *Pnigalio*, *Sympieis*, *Quadrastichus*, *Citrostichus*, *Galeopsomya* y *Chrysocaris*. De la familia Encyrtidae el género más conocido es *Ageniaspis*.

**Parasitoides en su zona de origen:** Las especies de parasitoides que se destacan en su zona de origen por importancia y efectividad son eulófidos, así como el encértido *Ageniaspis citricola* (Lovinovskaya) (Hoy y Nguyen, 1997) (Cuadro 1).

*Cuadro 1: Parasitoides del minador mas importantes citados en su zona de origen.*

Familia	Especie	India Hoy y Nguyen (1997)	China Huang y Tang (1996)	Tailandia Ujiye <i>et al.</i> (1996)	Taiwán Ujiye <i>et al.</i> (1996)
Eulophidae	<i>C.ingenuus</i>	*		*	*
	<i>C.phyllocnistoides</i>	*	*	*	*
	<i>Quadrastichus</i> sp.			*	*
	<i>Teleopterus</i> sp.			*	
	<i>Elarchertus</i> sp.		*		
	<i>Sympiesis</i> sp.			*	
Encyrtidae	<i>A. citricola</i>			*	*
Eurytomidae	<i>Eurytoma</i> sp.			*	

Batra y Sandhu (1981) y Narayan (1996) citados por Hoy y Nguyen (1997) encontraron que los parasitoides más abundantes en India son, por orden de importancia decreciente *Citrostichus phyllocnistoides* (Narayan) y *Cirrospilus ingenus* (Gahan).

En Tailandia se citan 15 especies de parasitoides, de las cuales *Ageniaspis citricola* (Lovinovskaya) es el más importante en tasa de parasitismo, mientras que *Quadrastichus* sp. es el más abundante (40% del total de parasitoides encontrados) (Ujiye *et al.*, 1996).

En China, al menos diez especies de parasitoides fueron encontradas, siendo los dominantes: *Citrostichus phyllocnistoides* y *Cirrospilus quadristriatus* (Huang y Tang, 1996). También se mencionan como parasitoides del minador en China a: *Tetrastichus phyllocnistoides*, *Elachertus* sp., *Chrysonotomyia* spp. y *Aleutotropis* sp. (Huang y Tan, 1996).

**Parasitoides en la zona de la primera expansión:** En Japón se reportan como parasitoides predominantes a *Sympiesis striatipes* (Ashmead), *Cirrospilus ingenus* y *Citrostichus phyllocnistoides* (Ujiye *et al.*, 1999). Se mencionan además: *Chrysocaris pentheus*, *Cirrospilus phyllocnistis* y *Zaommomentedon brevipetiolatus* (Kamijo, 1999). En Australia aparecen como principales especies autóctonas

*Semielacher petiolatus* y *Zaommomentedon brevipetiolatus* (Smith y Beattie, 1997). En Sudáfrica se citan *Cirrospilus* sp. y *Tetrastichus* sp. (Villiers, 1998).

**Parasitoides en la zona de la segunda expansión:** En España se han citado sobre el minador de los cítricos un gran número de especies de las cuales las más abundantes son: *Pnigalio pectinicornis*, *Cirrospilus* próximo a *lyncus*, *Cirrospilus vittatus*, *Sympiesis gregori* y *Chrysocaris pentheus* (Verdú 1996, Longo y Siscaro 1997, García Marí *et al.* 1997a y b, Cabezas *et al.* 1998, Urbaneja *et al.* 1998a y 2004). En otras regiones de la cuenca mediterránea las especies identificadas son: *Semielacher petiolatus*, *Cirrospilus pictus* y *Pnigalio* sp. (Mineo *et al.* 1998, Chermiti *et al.* 1999).

En Florida (EEUU) fueron identificados por Schauff y Evans parasitando al minador, *Pnigalio minio* y *Cirrospilus floridensis*, como los más abundantes (Peña *et al.* 1996, Evans 1999). En el sur de Texas se cita a una serie de especies indígenas parasitando larvas y pupas del minador, entre las que destaca por mayor abundancia el eulófido *Zagrammosoma multilineatum* (Legaspi *et al.*, 1999).

**Cuadro 2:** Parasitoides del minador más importantes citados en América.

Familia	Especie	EE.UU. Centroamérica Peña <i>et al.</i> 1996 Bautista <i>et al.</i> , 1998	Brasil Costa <i>et al.</i> , 1999	Argentina Diez y Fidalgo, 2002; 2003	Uruguay Asplanato <i>et al.</i> , 2004
Eulophidae	<i>Sympiesis</i> sp.	*			
	<i>Clostocerus</i> sp.	*	*		
	<i>Chrysocharis</i> sp.				*
	<i>Horisnemus</i> sp.		*		
	<i>Cirrospilus</i> sp.	*	*	*	*
	<i>Zagrammosoma</i> sp.	*	*		
	<i>Pnigalio minio</i>	*			
	<i>Galeopsomya fausta</i>	*	*	*	
	<i>Cirrospilus neotropicus</i>		*	*	*
Elasmidae	<i>Elasmus</i> sp.		*		

En México se citan once especies parasitando al minador, diez de ellas pertenecen a la familia Eulophidae; *Cirrospilus* sp. C (según Diez y Fidalgo, 2003: *Cirrospilus neotropicus*) aparece como la especie predominante (Ruiz *et al.*, 2001), seguida en importancia por *Galeopsomya* sp. (Bautista *et al.*, 1998).

En Venezuela se identificaron 3 géneros de ectoparasitoides: *Elasmus*, *Horisnemus* y *Cirrospilus* (Linares *et al.*, 2001). Se reportan para Brasil en orden de importancia decreciente a *Galeopsomya fausta*, *Horisnemus* sp., *Cirrospilus* sp. C y *Elasmus* sp. (Costa *et al.* 1999, García y Carabagielle 2000, Montes *et al.* 2001, Mello *et al.* 2001). En Argentina se citan como enemigos naturales autóctonos a *Cirrospilus neotropicus*, *Elasmus* sp. y *Galeopsomya fausta* (Diez *et al.* 2002, Diez y Fidalgo 2003). En Uruguay se determinó que el parasitoide predominante es *Cirrospilus neotropicus* (Asplanato *et al.*, 2004). Con menor relevancia se cita a *Chrysocaris* sp.

#### 3.4.1.2 Control biológico aplicado

Las técnicas de control biológico aplicado incluyen: conservación y mejora de la acción de organismos autóctonos, introducción y aclimatación de organismos foráneos (control biológico clásico) e incremento y liberaciones inundativas de organismos criados en cautividad (Ripollés 1997, Pintureau 2002).

La selección del enemigo natural se basa en dos criterios fundamentales: el reduccionista y el holístico. El criterio reduccionista se basa en la evaluación de atributos biológicos particulares del enemigo natural. En el criterio holístico, la selección del enemigo natural esta basada en las interacciones potenciales que pueden ocurrir entre éste y los demás factores de mortalidad asociados a la plaga, en el nuevo ambiente (Botto 2002, Kidd y Jervis 1996).

En la aproximación reduccionista la selección del enemigo natural se hace de acuerdo a los siguientes aspectos: sincronización de los ciclos biológicos (plaga-

enemigo natural), tiempo de desarrollo menor al de la plaga, especificidad, elevada tasa intrínseca de incremento, alta capacidad de búsqueda, tipo de reproducción, picaduras alimenticias, elevada adaptabilidad climática, elevada tasa de dispersión y facilidad de manejo y cría (De Bach 1979, Botto 2002).

**Control biológico clásico:** La primer experiencia de control biológico clásico del minador de los cítricos, se realizó en Australia en 1983 con la introducción de *Agonaspis citricola*, procedente de Tailandia, aunque no llegó a establecerse.

Entre 1985 y 1990 se realizaron varios intentos de introducir *Cirrospilus ingenuus* y *Citrostichus phyllocnistoides* que tampoco tuvieron éxito. Se efectuó en 1992 una nueva experiencia de introducción de las tres especies anteriores, lográndose un rápido establecimiento de *A. citricola* y *C. ingenuus* en el estado de Queensland (Smith y Beattie, 1997).

A partir de la invasión del minador de los cítricos en Florida se realizaron introducciones de varias especies de parasitoides originarios del sudeste asiático. *A. citricola* y *C. ingenuus* fueron colectados en Queensland (Australia) en 1994, e introducidos en Florida. Solamente *A. citricola* fue liberado y se estableció exitosamente (Hoy y Nguyen 1997, Pomerinke y Stansley 1998).

En la cuenca mediterránea el primer país que importó parasitoides fue Israel. En 1994, 6 especies de enemigos naturales fueron introducidos desde Tailandia, China, Australia y Florida. Las especies de himenópteros introducidos fueron: *A. citricola*, *C. ingenuus*, *C. phyllocnistoides*, *Quadrastichus* sp., *Semielacher petiolatus* y *Zaomomentedon brevipetiolatus* (Argov y Rössler 1996 y 1998).

En España también se realizaron importaciones de enemigos naturales entre 1996 y 1999. En total se han introducido en España 9 especies distintas. *A. citricola* desde Israel, Florida y Marruecos. *Quadrastichus* sp. desde Italia. *Galeopsomya fausta* desde Centroamérica. *S. petiolatus* desde Marruecos. Desde Sudáfrica

*Cryptastichus sabo*, *Platocharis coffeae* y *Cirrospilus cinctiventris*. *C. ingenuus* desde China y *C. phyllocnistoides* desde China e Israel (Vercher *et al.*, 2000). En la zona Valenciana, *A. citricola* no se adaptó, no logrando pasar el invierno. Se han establecido *Quadrastichus* sp. y *C. phyllocnistoides*, este último parasitoide es el que mostró una eficiencia notoria en el control de minador y una gran capacidad de dispersión. No hay evidencias del establecimiento definitivo de *S. petiolatus*, *C. ingenuus* y *G. fausta* (Vercher *et al.* 2000, García Marí *et al.* 2004).

En Venezuela (Yaracuy) se importó *A. citricola* por primera vez en 1998, desde Perú. Adaptándose exitosamente a las condiciones de dicha zona, se comprobó una alta eficiencia y tendencia al aumento del parasitismo (Linares *et al.*, 2001).

En Ecuador se ha logrado un importante nivel de parasitismo de *A. citricola*, con una amplia distribución en las principales zonas citrícolas del país. (Cañarte *et al.*, 2004). En Brasil en la zona Jaguaruina, el establecimiento de este parasitoide fue exitoso, pero se produce competencia con especies nativas, como *G. fausta* (Nogueira De Sá *et al.*, 2000). En Tucumán, Argentina se detecta su presencia a fines de 1997, lográndose resultados positivos a fines de 1998 con materiales provenientes de Perú (Diez *et al.*, 2000). Su establecimiento en el noroeste argentino ya está confirmado (Willink *et al.*, 1999).

En Uruguay se realizó la primer importación de *A. citricola* en marzo de 1999, desde Tucumán, Argentina. La primer liberación de dicho parasitoide se llevó a cabo en marzo de 2000 en quintas citrícolas del norte y sur de nuestro país. Este parasitoide muestra problemas de adaptación a nuestras condiciones no logrando sobrevivir la mayoría de los inviernos. Por otro lado, su efectividad durante la temporada es irregular (Buenahora *et al.*, 2004). Otra especie introducida fue *C. phyllocnistoides*, importada desde Tucumán y España. El parasitoide se liberó durante la temporada 2004- 2005. Se recuperó en todos los sitios de liberación pero en bajas poblaciones (Asplanato *et al.*, 2005).

## 2.5 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE *Cirrospilus neotropicus*

El parasitoide *Cirrospilus neotropicus* pertenece al orden Hymenoptera, superfamilia Chalcidoidea, familia Eulophidae, subfamilia Eulophinae (Schauff *et al.*, 1998).

Los eulófidos son pequeños, miden de 1 a 3 mm. Frecuentemente de colores brillantes. Poseen antenas de 7 a 9 segmentos, acodadas con funículo de 4 segmentos como máximo. En los machos las antenas generalmente son pectinadas. Las espurias tibiales del primer par de patas son cortas y robustas, las del segundo y tercer par son desarrolladas. Los tarsos presentan 4 segmentos (Bentancourt y Scatoni, 2001).

Por lo general parasitan insectos que habitan minas, agallas, galerías y otros lugares confinados. Usualmente son parasitoides de larvas, aunque también pueden parasitar pupas, huevos y algunos huevo-larva. Muchos son ectoparasitoides idiobiontes generalmente con un amplio rango de hospederos. Un importante número de especies se comporta como hiperparasitoides. Además, algunos miembros del género *Cirrospilus* pueden desarrollarse como hiperparasitoides facultativos (Bentancourt y Scatoni, 2001).

Costa (2000), cita a *C. neotropicus* en Colombia, Brasil y Argentina. Según Ruiz Cancino *et al.* (2001), se encuentra desde México hasta Argentina. En Uruguay fue identificado por el Dr. Kamijo, en el año 1998, parasitando larvas y pupas del minador de los cítricos (Scatoni *et al.* 1999, Buenahora *et al.* 2000).

*C. neotropicus* es un microhimenóptero que presenta dimorfismo sexual, la hembra es de cuerpo amarillo con algunas áreas de marrón oscuro, cuerpo de aproximadamente 1,68 mm de largo. El macho es similar a la hembra en estructura y coloración, presenta un tamaño menor al de la hembra (0,7 a 1,25 mm de largo). La diferenciación de sexos se observa dorsalmente en la región abdominal, donde la hembra presenta cuatro líneas transversales de color marrón oscuro y la presencia del

ovipositor, el macho presenta en el abdomen una sola línea transversal del mismo color (Diez y Fidalgo, 2003).

El parasitismo sobre *P. citrella* en Uruguay es variable durante la temporada, entre 0 y 15 % con máximos de 24 % de los estados parasitables. En general comienza a actuar tarde en la temporada, alcanzando los máximos parasitismos durante las brotaciones de otoño (Asplanato *et al.*, 2004).

### **3. BIOLOGÍA DE *C. neotropicus*: ESTUDIOS DE LABORATORIO**

#### **3.1 MATERIALES Y METODOS**

Los estudios de laboratorio se llevaron a cabo desde enero hasta julio de 2004 en el laboratorio de la Cátedra de Entomología de la Facultad de Agronomía, donde ya existe una metodología de cría del minador y sus parasitoides.

##### **3.1.1 Mantenimiento de la cría continua de *Phyllocnistis citrella*.**

El mantenimiento de la cría continua de *P. citrella* se puede dividir en 2 apartados: producción de plantas hospederas del minador de los cítricos y cría de *P. citrella*.

##### **3.1.1.1 Producción de plantas**

Para llevar a cabo éste estudio se utilizaron plantas de *Citrus limonia* (L.) Osbeck, mantenidas en invernadero de vidrio (Figura 2). Las plantas utilizadas en la cría eran de aproximadamente 35 cm de altura, con hojas receptivas a la puesta de *P. citrella*. Dichas plantas se cultivaron en macetas de plástico (10 cm de diámetro y 10 cm de altura), que contenían un sustrato para plantines.



### 3.1.1.2 Cría de *Phyllocnistis citrella*

Los individuos que se utilizaron para iniciar la cría procedían de predios citrícolas ubicados en la zona sur del país y de la cría continua que se realiza en el laboratorio de Entomología.

La cría de minador se realizó en una sala climatizada a una temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 5$  y una humedad relativa de  $65\% \pm 15$ . Se utilizaron jaulas con estructura de PVC y fundas de voile (0,75 m de frente, 0,5 m de altura y 0,60 m de profundidad) (Figura 3).



**Figura 3:** Cajas de P.V.C cubiertas de voile utilizadas en la cría de *P. citrella* .

En las cajas, se realizaron liberaciones periódicas de adultos de *P. citrella*, provenientes de campo y de laboratorio. Periódicamente se retiraban hojas con pupas de *P. citrella* y se introducían nuevas plantas. Las hojas retiradas se colocaban en bolsas de nylon. Los adultos que emergían se colectaban utilizando un aspirador entomológico. Estos eran utilizados para continuar la cría. Los adultos fueron alimentados con miel pura, la que se colocó en pequeñas gotas sobre placas de petri, dentro de las cajas de cría. De éstas cajas de cría continua se obtenían las larvas de segundo y tercer estadio de *P. citrella* para los ensayos de laboratorio de *C. neotropicus*.

### 3.1.2 Ciclo de vida y supervivencia de los estados inmaduros de *C. neotropicus*

Se armaron cajas de parasitación en placas de petri de 12 cm de diámetro con una capa fina de agar al 2% (Urbaneja *et al.*, 1998c). En cada caja se liberó una pareja de *C. neotropicus* recientemente emergida, obtenida de muestras colectadas en campo o como máximo de un ciclo de vida en laboratorio (Figura 4).

Se les ofreció larvas de segundo y tercer estadio de minador en hojas de limón Cravo (*Citrus limonia* (L.) Osbeck), las hojas previamente fueron lavadas con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5% y se enjuagaron con agua destilada.

Los adultos se alimentaron con miel pura en forma de pequeñas gotas colocadas sobre las hojas y la tapa de la placa de petri. Las cajas se sellaron con parafilm, se colocaron en cámara climatizada a 25 °C  $\pm$ 1°C y fotoperíodo de 16:8 horas (luz: oscuridad).

Las cajas de parasitación se controlaron diariamente bajo lupa estereoscópica. Las larvas de minador que presentaban huevos del parasitoide, se aislaron en nuevas placas de petri. Estas se colocaron en cámaras climatizadas a temperatura de 20 °C y 25 °C, según el estudio (Figura 4).

Se realizaron observaciones diarias de los parasitoides bajo lupa estereoscópica. Se registró el estado de desarrollo en el que se encontraban hasta la emergencia de los adultos, los cuales se sexaron.

A partir de registros diarios de individuos, se calculó la supervivencia por estado de desarrollo y la duración de los mismos a 20 °C y 25 °C.



**Figura 4:** Cajas de petri utilizadas para los estudios biológicos de *C. neotropicus*.

De las observaciones realizadas se eliminaron por dificultad en la observación del estado de huevo 7 individuos a 25 °C y 11 a 20 °C. A 20 °C se eliminaron 47 individuos por contaminación bacteriana. La bacteria fue identificada como *Serratia marcescens* (Doctor en Química Silvana Vero, com. pers.). Los individuos eliminados por alguna de las razones expuestas no fueron considerados en ninguno de los estudios.

Para evaluar el efecto de la temperatura sobre la duración del ciclo de vida y de los estadios inmaduros de *C. neotropicus*, se usaron modelos lineales generalizados en que se asume que la duración del ciclo tiene distribución gamma. En dichos modelos se tomaron en cuenta los factores sexo, temperatura, y su interacción. Se usó el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS versión 8.02. Las medias de los efectos significativos se compararon por contrastes simples.

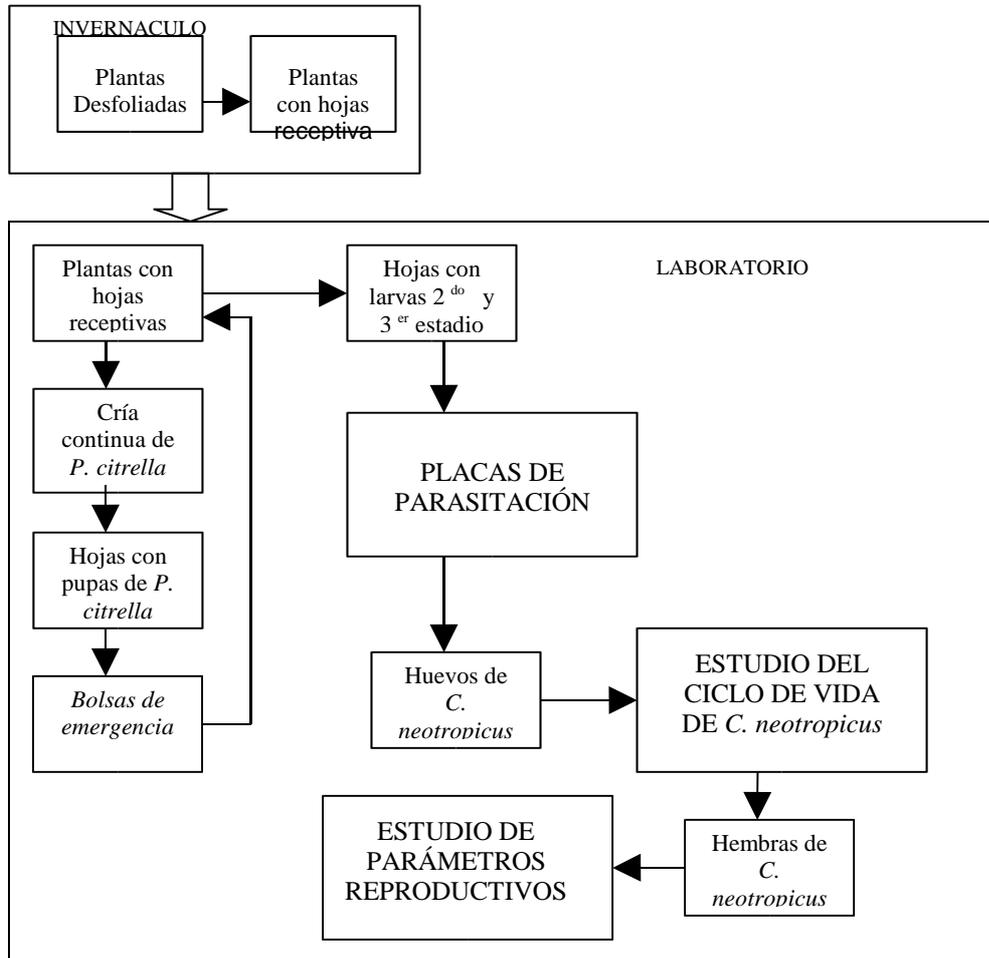
Para evaluar el efecto de la temperatura en la supervivencia de los estados inmaduros de *C. neotropicus*, se usaron modelos lineales generalizados correspondientes a un diseño completamente al azar, y en el que se asumió que la supervivencia tiene distribución binomial. La función de enlace utilizada fue logit. Se usó el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS versión 8.02.

### 3.1.3 Parámetros reproductivos a 25 °C de *Cirrospilus neotropicus*

Los parámetros reproductivos se estimaron a partir de las hembras emergidas del estudio del ciclo de vida a 25 °C. De esta manera se formaron 19 parejas, las cuales se colocaron en placas de petri y se mantuvieron a 25 °C. Si el macho moría, se reponía con otro recién emergido. Los adultos fueron alimentados con miel pura. Para los análisis se tomaron en cuenta 9 hembras, el resto se descartó por muerte debido a la manipulación o la contaminación con *Serratia marcescens*.

Diariamente se colocaron 10 larvas de minador de segundo y tercer estadio en cada placa. Se realizaron observaciones diarias y las larvas parasitadas encontradas se transfirieron a nuevas placas de petri. Se colocaron en cámara climatizada a una temperatura de 25 °C ±1 °C y fotoperíodo de 16:8 horas (luz: oscuridad). Los adultos fueron sexados al emerger.

Los parámetros reproductivos considerados fueron: tasa de oviposición (nº huevos/hembra/día), fecundidad (nº huevos/hembra), duración de los períodos de preoviposición- oviposición- posoviposición (días), longevidad de las hembras (días) y proporción sexual de la descendencia.



**Figura 5:** Diagrama del sistema de cría de *P. citrella* y *C. neotropicus*.

### 3.2 RESULTADOS Y DISCUSION

#### 3.2.1 Descripción de los estados de desarrollo de *C. neotropicus*

El huevo es cilíndrico de color blanco y aspecto liso. Su medida varia entre 0,3 mm y 0,5 mm de largo, se deposita externamente sobre el huésped o muy cercano a él (Figura 6).

**Figura 6:** Huevo de *C. neotropicus*.





La larva recién emergida es ápoda, difícil de diferenciar del huevo. A medida que transcurre su desarrollo aumenta de tamaño y va cambiando su lugar de anclaje, ya que es móvil. Es casi transparente y puede observarse el canal alimentario, más oscuro, que ocupa la mayor parte del cuerpo, y se contrae rítmicamente cuando la larva se alimenta. El largo de la larva recién eclosionada varía entre 0,4 mm y 0,8 mm. Cuando alcanza su máximo desarrollo mide entre 0,8 mm y 2,3 mm (Figura 7).



**Figura 7:** Larvas de *C. neotropicus*.

Cuando la larva alcanza el máximo desarrollo, comienza a expulsar el meconio y pasa al último estado larvario (prepupa). La prepupa es de coloración blanca opaca y mide entre 0,8 y 2,0 mm (Figura 8b).

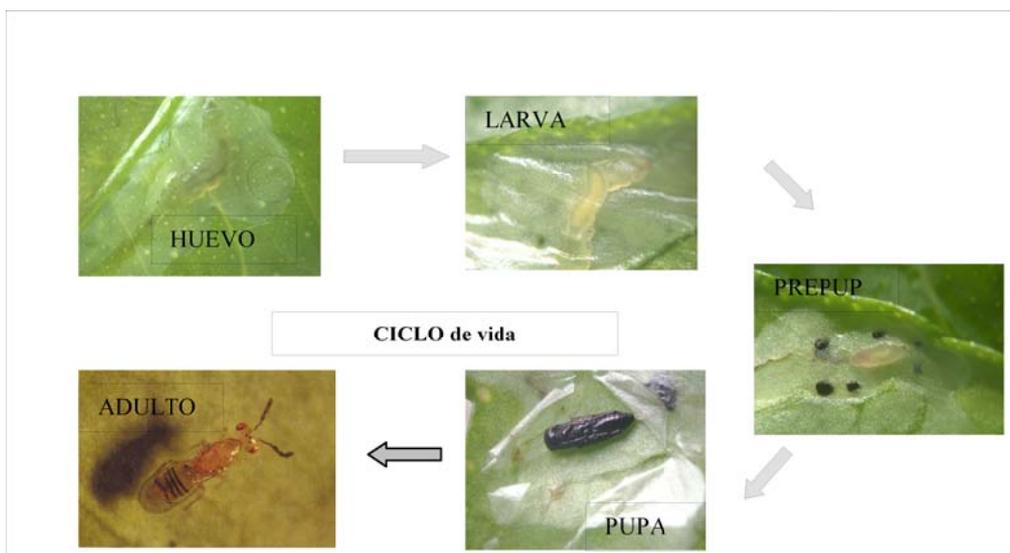
La pupa es de tipo libre, inicialmente de coloración blanca y posteriormente se torna negra. Alcanza una longitud que varía entre 1,5 mm y 2,1 mm (Figura 8a).



El adulto es de coloración marrón anaranjada. Existe un claro dimorfismo sexual. La hembra presenta en el dorso del abdomen cuatro bandas transversales negras, el macho en la misma región tiene una banda negra. Por lo general el macho es de menor tamaño (1,0 mm a 1,9mm) que la hembra (1,2 mm a 2,3mm) (Figura 9).



**Figura 9:** Adulto hembra de *C. neotropicus*.



### 3.2.2 Ciclo de vida y supervivencia de los estados inmaduros de *C. neotropicus*

La duración del período embrionario para machos fue de 1,5 días a 20 °C y 1,8 días a 25 °C. Para las hembras la duración de éste período fue de 1,7 días a 20 °C y 1,8 días a 25 °C. Para la duración del estado de huevo, no se observaron diferencias significativas entre sexos ni entre temperaturas (Cuadro 3).

El período larvario para machos fue de 5,2 días a 20 °C y 3,2 días a 25 °C. Para hembras fue de 5,3 días a 20 °C y 3,0 días a 25 °C. Se observaron diferencias significativas en la duración del estado larvario, entre temperaturas, para ambos sexos. No se encontraron diferencias significativas entre sexos.

La duración del estado de pupa para machos fue de 9,1 días a 20 °C y de 5,7 días a 25 °C. Para hembras fue de 9,9 días a 20 °C y 6,5 días a 25 °C. En este caso se observaron diferencias significativas entre temperaturas para ambos sexos y entre sexos a la misma temperatura.

**Cuadro 3:** Tiempo medio de desarrollo (días) en machos y hembras de *Cirrospilus neotropicus* a dos temperaturas constantes.

		TEMPERATURA, °C	
		20	25
<b>Macho</b>	Huevo	1,5 aA	1,8 aA
	Larva total	5,2 aA	3,2 aB
	Pupa	9,1 aA	5,7aB
	Total	15,7 aA	10,6 aB
		n=33	n=27
<b>Hembra</b>	Huevo	1,7aA	1,8aA
	Larva total	5,3 aA	3,0 aB
	Pupa	9,9 bA	6,5 bB
	Total	16,9 bA	11,2 bB
		n=23	n=21

Mismas letras minúsculas indican que no hay diferencias significativas entre sexos (LRT-Chi  $P < 0.05$ ). Mismas letras mayúsculas indican que no hay diferencias significativas entre temperaturas (LRT-Chi  $P < 0.05$ ). Número inicial de individuos: 107 a 25°C y 172 a 20°C.

La duración total promedio del ciclo de vida fue de 15,7 días para machos y 16,9 días para hembras a la temperatura de 20 °C. A la temperatura de 25 °C la duración total del ciclo de vida fue de 10,6 días para machos y 11,2 días para hembras. Se observaron diferencias significativas entre temperaturas y entre sexos.

La diferencia en la duración del ciclo de vida entre las temperaturas estudiadas (5 días para machos y 6 días para hembras), están explicadas por el estado larvario y fundamentalmente por el estado de pupa. Las hembras tienen un período medio de desarrollo mayor que los machos, debido a la mayor duración del estado pupal.

Estos resultados no se diferencian sustancialmente de los obtenidos en otras especies de eulófidos parasitoides de minador, como *Cirrospilus* sp próximo a *lyncus* y *Quadrastichus* sp. (Llácer *et al.* 1998, Urbaneja *et al.* 1999).

Los datos del presente trabajo difieren con los reportados para *Cirrospilus vittatus* (Urbaneja *et al.*, 2002) y *Citrostichus phyllocnistoides* (Urbaneja *et al.* 2003, Urbaneja y Jacas 2003). La duración del ciclo de vida de estas especies fue mayor a lo observado en este estudio para *C. neotropicus*.

Chagas y Parra (2000) encontraron que el ciclo de vida de *P. citrella* tiene una duración de 26 días a 20 °C y 16,5 días a 25 °C. En promedio *C. neotropicus* completa 1,5 generaciones por generación del minador de los cítricos, para las 2 temperaturas evaluadas. Esta característica de *C. neotropicus* es ventajosa, cada generación de minador debe soportar más de una generación del parasitoide.

La supervivencia del ciclo de vida total del parasitoide (Cuadro 4) fue aproximadamente del 50%, no existiendo diferencias significativas entre las temperaturas. El estado larvario mostró una menor supervivencia alcanzando aproximadamente el 70%. Solamente se encontraron diferencias significativas entre temperaturas, para el estado de huevo siendo mayor a 20 °C.

**Cuadro 4:** Porcentaje de supervivencia de *Cirrospilus neotropicus* a 20 °C y 25 °C, criados sobre larvas de *Phyllocnistis citrella* en hojas de *Citrus limonia* (L. Osbeck) en laboratorio.

		PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA			
n	T °C	huevo - larva	larva - pupa	pupa -adulto	Total
114	20	89,5a	70,6a	77,8a	49a
100	25	78b	71,8a	85,7a	48a

Mismas letras en la columna indican que no hay diferencias significativas entre temperaturas (LRT-Chi P<0.05).

Para *C. vittatus* (Urbaneja *et al.*,2002), y *Quadrastichus* sp. (Llácer *et al.*, 1998), se reportaron porcentajes de supervivencia relativamente mayores (60%) a los obtenidos para *C. neotropicus* en este trabajo. Sin embargo, se encuentran diferencias sustanciales con los datos obtenidos para *Cirrospilus* sp. próximo a *lyncus* (mayores a 90%) (Urbaneja *et al.*,1999) y *C. phyllocnistoides* (80%) (Urbaneja *et al.*, 2003).

Chagas y Parra (2000) indican para *P. citrella* una supervivencia promedio de 97% para el ciclo total a temperaturas de 20 °C y 25 °C. La supervivencia del minador de los cítricos es aproximadamente el doble de la supervivencia de *C. neotropicus*. Los resultados obtenidos de supervivencia de *C. neotropicus* indicarían que no es uno de sus mejores atributos biológicos.

### 3.2.3 Parámetros reproductivos de *C. neotropicus*

La fecundidad de *C. neotropicus* fue de 27,8 huevos, depositados a una tasa media de 1 huevo / día. Los períodos de preoviposición y posoviposición fueron de aproximadamente dos días, mientras que el de oviposición fue de 25 días. Algunas hembras comenzaron la postura el mismo día de emergidas. La relación sexual observada en la descendencia fue aproximadamente 1:1. (Cuadro 5).

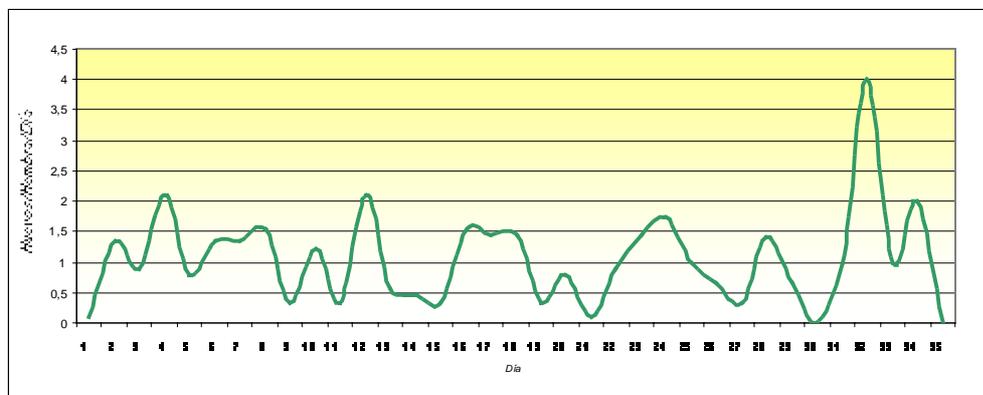
**Cuadro 5:** Parámetros reproductivos de *Cirrospilus neotropicus* a 25° C.

	Media ± EE
Fecundidad (huevos)	27,8± 8,45

<b>Tasa oviposición (huevos/día)</b>	1,0± 0,19
<b>Preoviposición(días)</b>	1,9± 1,61
<b>Oviposición(días)</b>	24,7± 2,77
<b>Posoviposición(días)</b>	1,9± 0,92
<b>Longevidad hembras</b>	27,8± 2,85

Error estándar (EE). N= 9.

Se observaron varios picos de oviposición a lo largo de la vida de las hembras, no existiendo un período de edad definido en el que se observe un máximo de postura (Figura 11).



**Figura 11:** Tasa de oviposición de *Cirrospilus neotropicus* a 25 °C.

Durante los primeros 23 días del estudio, sobrevivieron las nueve hembras, a partir del día 32 solamente se mantuvo un individuo vivo. El mayor pico de postura que se observa al final del período está dado por esa única hembra (4 huevos).

Los datos obtenidos para *C. neotropicus* difieren con los de otros eulófidis parasitoides del minador. Para *C. vittatus*, Urbaneja *et al.* (2002) señalan una fecundidad media de 39 huevos/hembra con una tasa de oviposición de 5 huevos/día, a 25 °C. A la misma temperatura, Urbaneja *et al.* (2001) reportan para *Cirrospilus* próximo a *lyncus* valores de fecundidad y tasa de oviposición mayores a los obtenidos en el presente trabajo (100 huevos/hembra, 5 huevos/día). *C. phyllocnistoides* puede llegar a poner más de 10 huevos/día durante aproximadamente 15 días (Urbaneja y Jacas, 2003). Para *Quadrastichus* sp. a 20 °C la fecundidad media fue de 341 huevos/hembra y la tasa de oviposición fue de 6,6

huevos/día (Llácer *et al.*, 1998). Según lo anteriormente expuesto, se puede afirmar que *C. neotropicus* presenta una baja fecundidad con respecto a otros eulófidios.

*P. citrella* presenta a 25 °C una fecundidad media de 31 huevos/hembra, con una tasa de oviposición de 2,6 huevos/día (Margaix *et al.*, 1998). La fecundidad de *C. neotropicus* es parecida a la de *P. citrella*, pero, la tasa de oviposición del hospedero es el doble de la del parasitoide. Esta característica lo pone en desventaja como agente controlador de la población del minador de los cítricos, en las condiciones de temperatura evaluadas.

Para *C. vittatus*, los períodos de preoviposición, oviposición, y posoviposición fueron de 3; 8 y 1 días respectivamente (Urbaneja *et al.*, 2002). Son diferentes a los resultados obtenidos para *C. neotropicus*.

Durante las observaciones realizadas en el estudio de fertilidad a 25 °C, se constató que se realizaba picaduras alimenticias y solo una de las nueve hembras testeadas ovipuso el primer día.

De forma general las especies sinovigénicas tienen períodos prolongados de preoviposición y realizan picaduras alimenticias (Quicke, 1997). Las picaduras alimenticias están asociadas a una baja proporción de oocitos maduros al momento de la emergencia, la razón de esto es que puede requerir nutrientes extra (proteínas) para continuar con la maduración de los huevos. La estrategia de maduración de los huevos puede estar asociada con el modo de parasitismo. Los hábitos idiobiontes se relacionan con estrategias de sinovigenia (Quicke 1997, Jervis *et al.* 2001). Por lo anterior se podría suponer que *C. neotropicus* presenta cierto grado de sinovigenia. Aunque, para confirmar esto se deberían realizar nuevos estudios biológicos, en los que se evaluara otros parámetros de comportamiento como la realización de picaduras alimenticias, la relación de estas con la fecundidad y longevidad de la hembra. También deberían realizarse estudios anatómicos del sistema reproductor de la hembra.

Las especies sinovigénicas pueden dividirse en dos grupos. Las que presentan ovulación bajo control interno y las de ovulación bajo control externo. En las últimas la reabsorción de huevos maduros es obligatoria debido a la continua maduración de huevos, independientemente de la disponibilidad de hospederos (Quicke, 1997). La influencia de la reabsorción de huevos sobre el costo de oviposición varía con la disponibilidad de hospederos (Rosenheim *et al.*, 2000).

Para *C. vittatus* la oviposición es dependiente de la edad de la hembra (Urbaneja *et al.*, 2002). En este estudio a 25 °C no es posible afirmar que la oviposición de las hembras de *C. neotropicus* sea dependiente de la edad de las mismas. Según los resultados obtenidos no existiría un período de máxima oviposición durante la vida de la hembra. En otros estudios realizados en la misma especie a una temperatura de 20 °C (Asplanato *et al.*, 2005, datos no publicados), se puede observar cierta dependencia entre la oviposición y la edad de la hembra. A medida que aumenta la edad de la hembra aumenta la oviposición y luego de un máximo comienza a disminuir.

*C. neotropicus* comparado con otros parasitoides del minador, como ser *C. vittatus* y *C. próximo a lyncus*, presenta una mayor longevidad. La alta longevidad es una característica en enemigos naturales con alta capacidad de búsqueda, muy importante en situaciones con baja disponibilidad de hospederos (Yamamoto y Foerster, 2003). De cualquier manera no es posible asegurar con este estudio que *C. neotropicus* tenga alta capacidad de búsqueda al tener mayor longevidad que otros parasitoides del minador.

Las diferencias observadas en longevidad, con otras especies de *Cirrospilus*, puede deberse a la menor fecundidad. La maduración de los huevos a lo largo de su vida es un proceso que demanda energía, por lo que especies con alta fecundidad tienden a tener menor longevidad.

## **4. PARASITISMO DE *C. neotropicus* : ESTUDIOS DE CAMPO**

### 4.1 MATERIALES Y METODOS

Este estudio se realizó durante la temporada de diciembre 2004- mayo 2005, incluyó actividades de laboratorio y de campo.

#### 4.1.1 Parcelas

Las evaluaciones fueron realizadas en tres cuadros de limoneros en plena producción, pertenecientes a predios comerciales ubicados en la zona sur de Uruguay (Cuadro 6).

*Cuadro 6: Ubicación y características generales de las parcelas.*

Zona (departamento)	Parcela	Variedad	Portainjerto	Edad (años)	Densidad
Kiyú (San. José)	1	Limón criollo	<i>Poncirus trifoliata</i>	28	7 * 3,5
Kiyú (San. José)	2	Limón criollo	<i>Poncirus trifoliata</i>	24-25	7 * 3,5
Pajas Blancas (Montevideo)	3	Limón criollo	<i>Poncirus trifoliata</i>	25	7 * 3,5

Las parcelas 1 y 2 ubicadas en Kiyú recibieron el manejo habitual para la empresa en cuanto a fertilización y riego. Durante la temporada de estudio, en la parcela 1 se realizaron solamente dos aplicaciones con aceite mineral, tomando este manejo químico como estándar. En la parcela 2 se realizó el manejo sanitario convencional del predio para el control de cochinillas y minador. La parcela 3 (Pajas Blancas) no tiene riego, en ésta no se realizaron aplicaciones de insecticidas durante el estudio (Cuadro 7).

*Cuadro 7: Tratamientos plaguicidas efectuados durante el estudio, en las parcelas evaluadas.*

Parcela	Tratamientos			
	Fecha	Principio Activo	Nombre Comercial	Concentración (cc ó gr/ 100 l)
1 (Kiyú)	07/12/04	aceite mineral	Sunspray Ultrafine	1500cc
	28/01/05	aceite mineral	Argenfrut R-V	1500cc
2 (Kiyú)	18/11/04	clofentezina	Acaristop 50 SC	3,5cc
	03/12/04	aceite mineral	Sunspray Ultrafine	1500cc
	13/01/05	abamectin	Vertilan 1.8 CE	15cc
	21/01/05	aceite mineral	Argenfrut R-V	1500cc
	05/02/05	novaluron	Rimon 10 CE	50cc
	28/02/05	imidacloprid	Winner 70 WD6	15gr
3 (Pajas Blancas)	Parcela no tratada			

Se registraron las temperaturas máximas y mínimas, la humedad relativa y las precipitaciones de las estaciones meteorológicas más cercanas a las parcelas evaluadas. Para las parcelas de Kiyú se usó la información de la estación meteorológica instalada en el predio. Para la parcela 3 (Pajas Blancas), los registros utilizados fueron los de la estación de Sayago (Montevideo).

#### 4.1.2 Muestreo y Análisis

La frecuencia de muestreos fue quincenal durante toda la temporada de estudio. En cada fecha se tomaron 50 hojas con presencia de larvas de segundo y tercer estadio de desarrollo del minador y 50 hojas con presencia de prepupas y pupas, de árboles seleccionados al azar.

El procesamiento del material se realizó en laboratorio, bajo microscopio estereoscópico. Se registraron todos los estados de desarrollo del minador y sus parasitoides. Las larvas y pupas de parasitoides que se encontraron en las muestras se colocaron en cámara de cría a 25°C hasta la emergencia de los adultos para su posterior identificación. En base a observaciones previas se tomaron como estados susceptibles del parasitoide: segundo y tercer estadio larvario, prepupa y pupa. El porcentaje de parasitismo se calculó en base a estos estados de desarrollo.

La incidencia de parasitismo de *C. neotropicus* se estudió usando modelos lineales generalizados donde se asumió que el número de individuos parasitados en relación al número de individuos observados, tuvo distribución binomial. En los mismos, se usó un efecto a la vez (predio, estación o tipo de hoja). Se usó el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS versión 8.02.

Para estudiar la preferencia de parasitación por estado de desarrollo, se usó un modelo lineal similar al anterior, pero donde el factor involucrado fue el estado de preferencia.

## 4.2 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.2.1 Parasitismo global durante la temporada 2004 – 2005

El parasitismo global de *C. neotropicus* durante la temporada diciembre 2004 - mayo 2005 mostró diferencias significativas entre las parcelas ubicadas en Kiyú y la de Pajas Blancas (Cuadro 8).

En la zona de Kiyú a pesar de que en la parcela 2 se realizó una aplicación específica para el control de minador con abamectin (Cuadro 7), los niveles de parasitismo no mostraron diferencias estadísticas con la parcela 1, donde solamente se realizaron tratamientos con aceite mineral para el control de cochinillas. Las diferencias en los valores observados en Kiyú y Pajas Blancas son independientes a las aplicaciones de plaguicidas realizadas. A pesar que la parcela 3 ubicada en Pajas Blancas, no recibió ningún tratamiento insecticida, fue la presentó un parasitismo casi nulo durante todo el período de estudio.

*Cuadro 8: Porcentaje de parasitismo promedio por parcela.*

Parcela	Media (Li; Ls)
1 (Kiyú)	12,7 (7,8; 18,6) a
2 (Kiyú)	9,7 (5,5; 14,9) a
3 (Pajas Blancas)	0,5 (0; 5,1) b

Mismas letras en la columna indican que no hay diferencias significativas entre parcelas (LRT-Chi  $P < 0,10$ ).

Las diferencias encontradas entre zonas concuerdan con lo señalado por Asplanato *et al.* (2004) para Uruguay. Vercher (2000) señala lo mismo para otros eulófidos en España.

Los niveles de parasitismo medio encontrados en las parcelas evaluadas son bajos, el máximo observado fue de 13% (Cuadro 8). En México se reportan

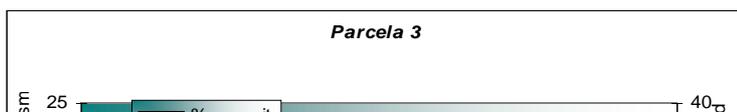
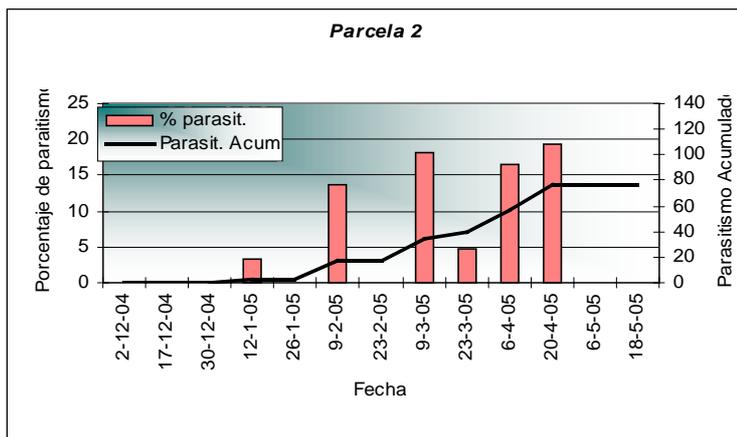
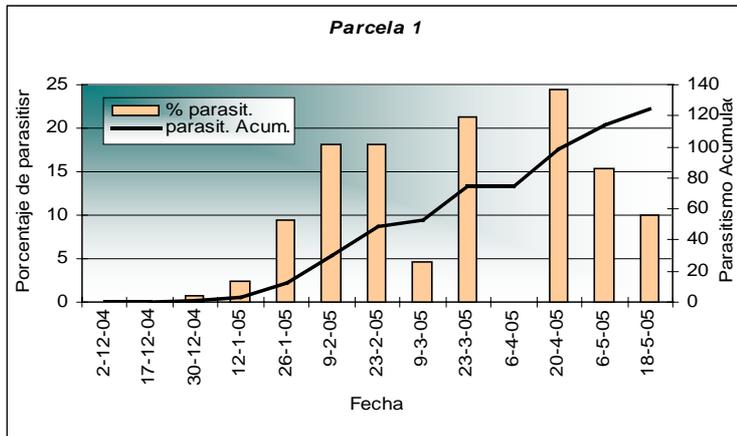
parasitismos de especies autóctonas mayores al 70% (Bautista *et al.*, 1998), mientras que en Brasil para la región de Jaguariúna se observan valores medios del 40% (Costa *et al.*, 1999). Para España se mencionan porcentajes variables entre 5 y 60 (Urbaneja *et al.*, 1998).

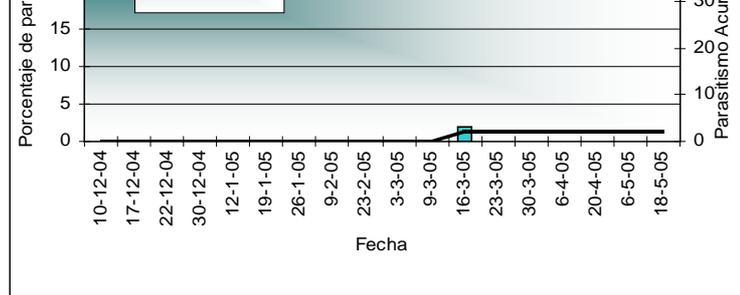
#### 4.2.2 Evolución anual del parasitismo por parcela durante la temporada 2004 – 2005

La presencia de *C. neotropicus* fue detectada en las parcelas de Kiyú (1 y 2) a partir de fines de diciembre (Figura 12), un mes después de haberse iniciado el ataque de minador (datos no publicados). Al comienzo, las poblaciones de minador fueron muy bajas (0,005 insectos/hoja), al detectarse el parasitoide la densidad poblacional del minador fue alta alcanzando 2 insectos/hoja.

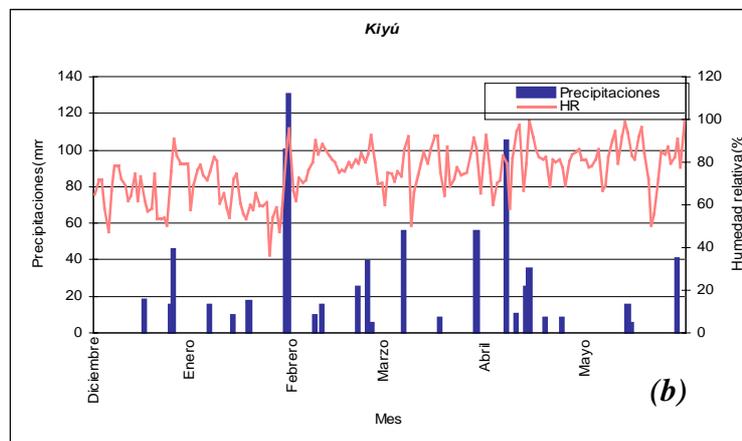
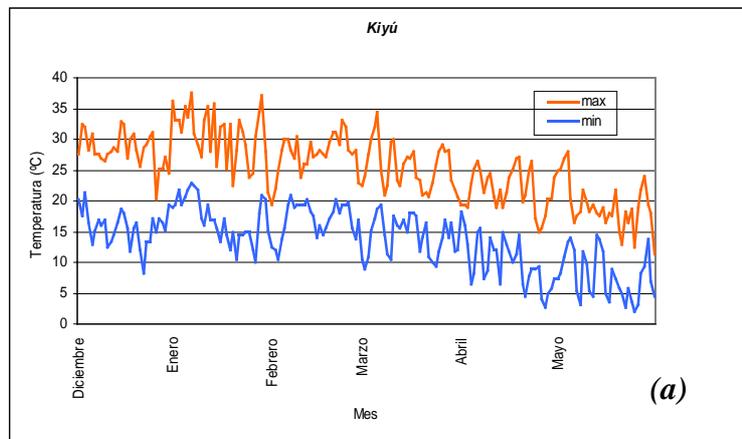
A pesar de que la tendencia en la densidad poblacional del minador fue similar a la observada en Kiyú, en Pajas Blancas (parcela 3), solo se detectó la presencia del parasitoide en una fecha de muestreo (Figura 12).

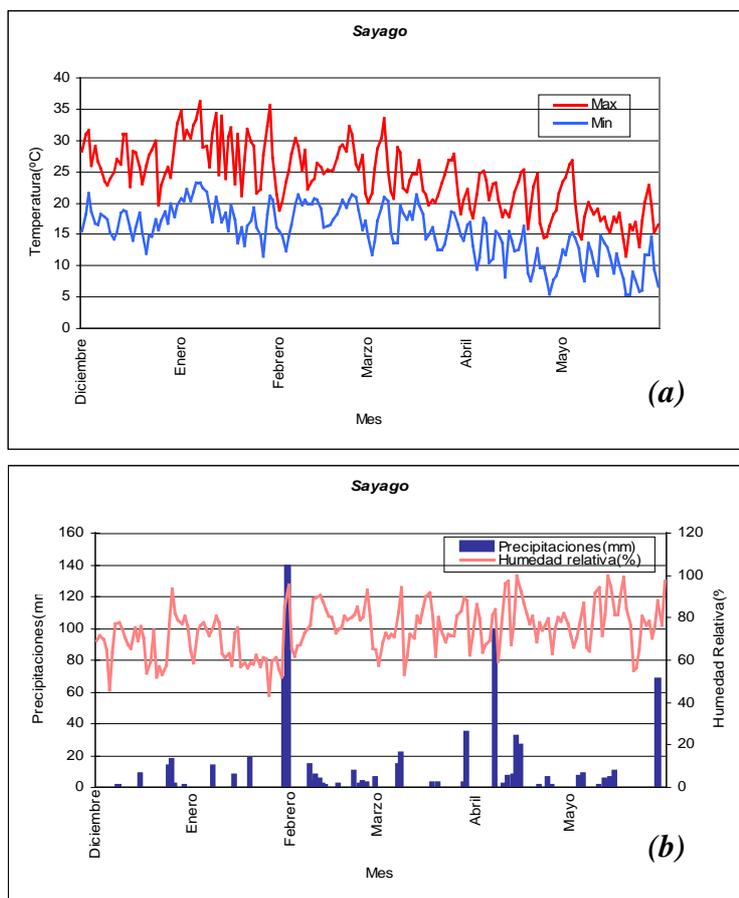
La evolución estacional de *C. neotropicus* en las zonas evaluadas mostró un aumento del parasitismo hacia el otoño, alcanzando en este estudio los valores máximos a fines de abril (alrededor del 20%), cuando la densidad de poblaciones de minador también se hace máxima. La tendencia observada del parasitismo coincide con lo señalado para otras especies de eulófidos autóctonos en: España (Costa Comelles *et al.* 1995, Urbaneja *et al.* 2000, Vercher 2000), Túnez (Chermiti *et al.*, 1999) y Argentina (Cáceres, 1999). Estos datos concuerdan con lo reportado para *C. neotropicus* por Asplanato *et al.* (2004) en estudios realizados en otros años en predios de la zona sur y norte del Uruguay.





Se observó una importante variabilidad en los porcentajes de parasitismo entre las fechas evaluadas que variaron entre 0% y 24% a lo largo de la temporada. Esto también fue mencionado para otras especies de eulófidis por Vercher (2000). Esta variación en los niveles de parasitismo durante la temporada podría estar explicada por la disponibilidad de estados parasitables del minador y la coincidencia en el tiempo con los adultos del parasitoide. La presencia de estados susceptibles está en función de las brotaciones de la planta, éstas se dan en forma discontinua durante la temporada. Otros factores que influyen en la abundancia del minador son la temperatura, precipitaciones y humedad relativa, entre otros (Garrido y Gascón 1995, García Marí *et al.* 1997b) (Figuras 13 y 14).



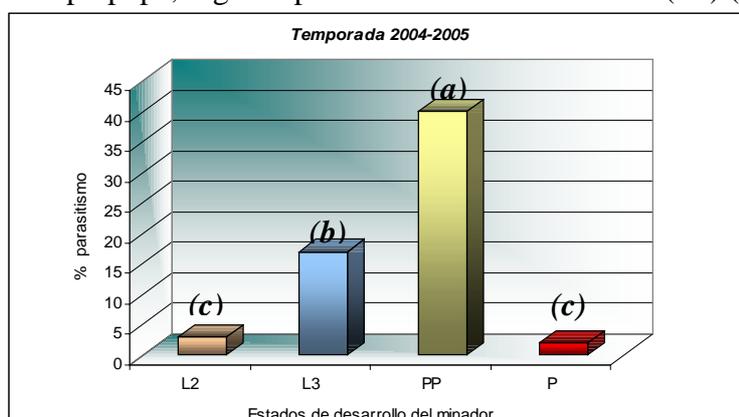


**Figura 14:** (a) Temperaturas máximas y mínimas en la temporada 2004-2005 en Sayago (b) precipitaciones en la temporada 2004-2005 en Sayago.

Los máximos parasitismos se observan cuando las temperaturas comienzan a ser moderadas (Figuras 13 y 14), a partir del mes de marzo.

#### 4.2.3 Estados de desarrollo de *P. citrella* preferentemente parasitados

Se ha estudiado la preferencia de *C. neotropicus* por los distintos estados de desarrollo del minador. El estado de desarrollo del minador preferentemente parasitado fue el de prepupa, seguido por el tercer estadio larvario (L3) (Figura 15).



Esto coincide con lo reportado por Vercher (2000) para *Pnigalio* sp. Para otros parasitoides autóctonos se observa mayor preferencia por larvas de tercer estadio (Cabezas *et al.* 1998, Urbaneja *et al.* 2000, Amalin *et al.* 2002).

#### 4.2.4 Relación del parasitismo con el tipo de hoja

Se observa mayores porcentajes de parasitismo en hojas tipo pupa, que corresponde a hojas más desarrolladas. Existen diferencias significativas entre los porcentajes de parasitismo de los estados de desarrollo del minador (excepto pupa) según el tipo de hoja (Cuadro 9).

*Cuadro 9: Porcentaje de parasitación por tipo de hoja.*

Tipo de hoja	Larva 2do estadio	% parasitismo			
		Larva 3er estadio	Prepupa	Pupa	Global
<b>HP</b>	10,7 a	37,5 a	54,1 a	2,1 a	12,3
<b>HL</b>	1,5 b	9,6 b	17,5 b	2,1 a	6,2

Mismas letras indican que no hay diferencias significativas entre tipo de hoja (LRT-Chi  $P < 0.05$ ).

Éstas diferencias podrían estar explicadas, entre otros factores, por la presencia de estados de desarrollo del minador más avanzados, que son los preferentemente parasitados por *C. neotropicus*.

#### 4.2.5 Otras especies identificadas

Durante el estudio se encontraron en menor número otros parasitoides, además de *C. neotropicus*. Se identificaron predominantemente *Ageniaspis citricola*, parasitoide introducido en el Uruguay en 1999. Otra especie identificada fue *Chrysocaris* sp, parasitoide autóctono.

El número de parasitoides identificados durante el estudio es reducido en comparación con otros trabajos (Bautista *et al.* 1998, Chermiti *et al.* 1999). En Florida se identificaron 8 especies de parasitoides atacando al minador, la más importante fue *Pnigalio minio* (Peña *et al.*, 1996), en Texas se reportan 6 especies (Legaspi *et al.*, 1999). Urbaneja *et al.* (1998) menciona para la región de Valencia 6 parasitoides autóctonos. En Brasil se citan hasta 6 especies de parasitoides (Mello Garcia *et al.* 2001, Costa *et al.* 1999).

## **5. CONCLUSIONES**

1. A 20 °C el ciclo de vida de machos de *C. neotropicus* tiene una duración de 16 días y el de hembras de 17 días. A 25 °C el ciclo de vida de machos y hembras de *C. neotropicus* es de 11 días.
2. Para estas condiciones de temperatura el ciclo de vida del parasitoide es menor a la duración del ciclo de vida de *P. citrella*.
3. El efecto de la temperatura sobre la supervivencia de los estados inmaduros de desarrollo mostró que *C. neotropicus* presenta menor

supervivencia que otros *Cirrospilus* parasitoides del minador, incluso menor que la de *P. citrella*.

4. Los principales parámetros biológicos obtenidos: fecundidad (28 huevos/hembra) y tasa de oviposición (1 huevo/hembra/día) muestran que *C. neotropicus* tiene baja capacidad reproductiva con respecto a otros eulófidos y al minador.
5. La longevidad de las hembras (28 días a 25 °C), es mayor a la de otros eulófidos y a la de *P. citrella*.
6. El parasitismo medio mostró diferencias entre zonas. Kiyú presentó mayor parasitismo (entre 10% y 13%) que Pajas Blancas (0,5%).
7. El parasitismo de *C. neotropicus* varió entre 0% y 24%, mostrando una tendencia al aumento hacia el otoño.
8. El estado de desarrollo del minador preferentemente parasitado fue el de prepupa, seguido por el tercer estadio larvario.
9. El porcentaje de parasitismo es mayor en hojas más desarrolladas (hojas tipo pupa).
10. El complejo de parasitoides que ataca al minador de los cítricos en Uruguay es pobre en cuanto al número de especies. La especie predominante es *Cirrospilus neotropicus*.
11. *C. neotropicus* es el principal parasitoide autóctono en Uruguay, por lo tanto se considera importante su conservación y la mejora de su acción. Es necesario continuar la investigación en relación al control biológico del

minador de forma de poder diseñar una estrategia adecuada a nuestras condiciones, no ignorando el control que naturalmente *C. neotropicus* realiza sobre *P. citrella*.

## 6. RESUMEN

*Phyllocnistis citrella* es considerada actualmente una de las principales plagas de los cítricos. Provoca daños directos e indirectos, siendo éstos últimos los de mayor relevancia en montes adultos. El daño indirecto está relacionado a la mayor incidencia del cancro cítrico, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*; las galerías producidas por las larvas del minador son una vía de ingreso para la bacteria. El cancro cítrico es el problema sanitario más serio para este cultivo en el país, siendo una limitante para la exportación. Durante la dispersión del minador de los cítricos por el mundo, aparecieron enemigos naturales que se adaptaron al nuevo hospedero. En nuestro país el parasitoide predominante es *C. neotropicus*. En el ámbito mundial

es muy escasa la información que se dispone de esta especie. El objetivo de este trabajo fue estudiar la biología del parasitoide en condiciones de laboratorio y su parasitismo a campo, como un primer aporte para evaluar su comportamiento en nuestras condiciones y su posible utilización en control biológico aplicado. El ciclo de vida y la supervivencia de *C. neotropicus* se evaluó a 20 °C y 25 °C. Algunos parámetros reproductivos del parasitoide se estudiaron a 25 °C. El parasitismo se estimó en parcelas comerciales de la zona sur del Uruguay, desde diciembre de 2004 hasta mayo de 2005. El ciclo de vida de *C. neotropicus* a 20 °C tuvo una duración de 16 días para machos y 17 días para hembras, a 25 °C el ciclo de vida de machos y hembras fue de 11 días. La supervivencia global del parasitoide fue aproximadamente del 50%. La fecundidad de *C. neotropicus* fue de 28 huevos, depositados a una tasa media de 1 huevo/día. Los períodos de preoviposición y posoviposición fueron de aproximadamente dos días, mientras que el de oviposición fue de 25 días, observándose una relación sexual en la descendencia de aproximadamente 1:1. El parasitismo medio mostró diferencias entre zonas, Kiyú presentó mayor porcentaje (entre 10% y 13%) que Pajas Blancas (0,5%). Durante la temporada varió entre 0% y 24%, mostrando una tendencia al aumento hacia el otoño. El estado de desarrollo del minador preferentemente parasitado fue el de prepupa, seguido por el tercer estadio larvario. El porcentaje de parasitismo fue mayor en hojas más desarrolladas. Se identificó como especie predominante a *C. neotropicus*.

Palabras clave: *Phyllocnistis citrella*, *Cirrospilus neotropicus*, ciclo de vida, parasitismo.

## 7. SUMMARY

*Phyllocnistis citrella* is considered at the moment one of the main plagues of the citrus. It causes direct and indirect damages, being these last those of greater relevance in adult mount. The indirect damage is related to the greater incidence of canker citric, *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*; the galleries produced by the larvae of the citrus leafminer are a route of entrance for the bacterium. Canker citric is the more serious sanitary problem for this culture in the country, being a limitant for the export. During the dispersion of the *P. citrella* of the citrus by the world, they appeared enemy natural that they adapted to the new host. In our country the predominant parasitoid is *C. neotropicus*. In the world-wide scope the information is very little that is had this species. The objective of this work was to study the biology of the parasitoid in conditions of laboratory and their parasitism to field, as a first contribution to evaluate its behavior in our conditions and their possible use in applied biological control. The life cycle and the survival of *C. neotropicus* evaluated to 20 °C and 25 °C. Some reproductive parameters of the parasitoid studied to 25 °C. The parasitism was considered in commercial parcels of the South zone of Uruguay, from December of 2004 to May of 2005. The life cycle of *C. neotropicus* to 20 °C lasted 16 days for males and 17 days for females, to 25 °C the life cycle of males and females was of 11 days.

The global survival of the parasitoid was approximately of 50%. The fecundity of *C. neotropicus* was of 28 eggs, deposited to an average rate of 1 egg/day. The periods of preoviposition and posoviposition were of approximately two days, whereas the one of oviposition was of 25 days, being observed a sexual relation in the descendants of approximately 1:1. The average parasitism showed differences between zones, Kiyú presented greater percentage (between 10% and 13%) that Pajas Blancas (0,5%). During the season varied between 0% and 24%, showing a tendency the increase towards the autumn. The stage of development preferentially parasitized was prepupa, followed by the third larval stage. The percentage of parasitism is greater more in developed leaves. *Cirrospilus neotropicus* was identified like predominant parasitoid of citrus leafminer, in the south of Uruguay.

Keys words: *Phyllocnistis*, *Cirrospilus*, life cycle, parasitism.

## **8. BIBLIOGRAFÍA**

1. ACHOR, D.; BROWNING, H.; ALBRIGO, L. 1997. Anatomical and histochemical effects of feeding by citrus leafminer larvae (*Phyllocnistis citrella* Stainton) in citrus leaves. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122 (6): 829 –836.
2. AMALIN, D.; PEÑA, J.; DUNCAN, R.; BROWNING, H.; MCSORLEY, R. 2002. Natural mortality factors acting on citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in lime orchards in South Florida. BioControl. 47: 327-347.
3. ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. 1996. Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Israel. Phytoparasitica. 24(1): 33-38.
4. ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. 1998. Rearing methods of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton and its parasitoids in Israel. Biological control. 11: 18-21.
5. ASPLANATO, G.; BUENAHORA, J.; PAZOS, J.; PAULLIER, J.; MUJICA, V.; BAO, L. 2004. Fluctuación de poblaciones de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) y su parasitismo natural en Uruguay. In: Congreso Brasileiro de Entomología (20º, 2004, Gramado, RS). Programa e resumos. Gramado, EMBRAPA. p. 426.
6. ASPLANATO, G.; BUENAHORA, J.; PAZOS, J.; SCATONI, I.; BENTANCOURT, C.; BAO, L., CASCO, N.; RUBIO, L. 2005. Estrategia de investigación en el minador de los cítricos. In: Jornada de Difusión de Progreso de Actividades, Sanidad Citrícola, (2ª, 2005, Salto). Trabajos presentados. Salto, Convenio Cooperación Técnica INIA/DGSA7FA. pp. 41- 49.

7. BAUTISTA-MARTINEZ, N.; CARRILLO-SANCHEZ, J. L.; BRAVO-MOJICA, H.; KOCH, S. 1998. Natural parasitism of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) at Cutilahuac, Veracruz, México. Florida Entomologist. 81 (1): 30- 37.
8. BELASQUE, J.; PARRA-PEDRAZZOLI, L.; RODRIGUES NETO, J.; YAMAMOTO, P.; CHAGAS, M.; PARRA, J.; VINYAR, B.; HARTUNG, J. 2005. Adult citrus leafminer (*Phyllocnistis citrella*) are not efficient vectors for *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Plant Disease. 89(6): 590-594.
9. BENTANCOURT, C. M.; SCATONI, I. B. 2001. Enemigos naturales; manual ilustrado para la agricultura y la forestación. Montevideo, Hemisferio Sur. 169 p.
10. BOTTO, E. 2002. Selección de enemigos naturales para su empleo en control biológico aplicado (CBA). In: Enemigos naturales como reguladores de poblaciones de insectos; biodiversidad, conservación y manejo. César Basso y Adela Ribeiro eds. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 65-77.
11. BUENAHORA, J.; ASPLANATO, G.; BENTANCOURT, C.; SCATONI, I.; PAZOS, J.; TADEO, A. 2004. Introducción y liberación de *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) en Uruguay. In: Congreso Brasileiro de Entomología. (20º, Gramado, RS). Programa e Resumos. Gramado, EMBRAPA. p. 298.
12. CABEZAS, Y.; CASAÑAS, M. A.; FERNÁNDEZ, I.; MARTÍN, P.; OCETE, M. 1998. Parasitismo de *Pnigalio* sp. Schrank (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Phyllocnistidae) en cítricos del área metropolitana de Sevilla. Bol. San. Veg. Plagas. 24 (1): 175-182.

13. CACERES, S. 1999. Estrategias de control del minador de los citrus en Corrientes. In: Jornadas Técnicas de Citricultura (1999, Concordia, Entre Ríos). Manejo integrado del minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en el NOA. Concordia, INTA. 11 p.
14. CAÑARTE BERMÚDEZ, E., MARTINEZ, N.; VERA, J.; ARREDONDO, H.; HUERTA, A. 2004. *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoids in citrus in Ecuador. Florida Entomologist. 87(1): 10 –17.
15. CHAGAS, M.; PARRA, J. 2000. Ecología, comportamiento e bionomía. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae); técnica de criação e biología em diferentes temperaturas. An. Soc. Entomol. Brasil. 29 (2): 227-235.
16. CHAGAS, M; PARRA, J.; NAMEKATA, T.; HARTUNG, J; YAMAMOTO, P. 2001. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and relationship with citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* in Brazil. Neotropical Entomology. 30(1): 55-59.
17. CHERMITI, B.; GAHBICHE, H.; BRAHAM, M.; ZNAIDI, M.; DALI, M. 1999. Parasitisme naturel de la mineuse des agumes, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), en Tunisie. Fruits. 54 (1): 11-22.
18. CHRISTIANO, R. 2003. Componentes monocíclicos do Cancro Cítrico no sistema *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* – Limao Tahiti – *Phyllocnistis citrella*, sob condições controladas. Tesis de maestre en Agronomia. Piracicaba, Brasil. ESALQ. 115 p.
19. COOK, A. A. 1988. Association of citrus canker pustules with leafminer tunnels in North Yemen. Plant Disease. 72 (6): 544- 546.

20. COSTA COMELLES, J.; VERHER, R.; SANTAMARÍA, A.; GARCIA MARI, F. 1995. Evolución poblacional anual del minador de hojas *Phyllocnistis citrella* y su parasitoide *Pnigalio mediterraneus* en una parcela de naranjo. Levante agrícola. 330 (4° trimestre): 300-304.
21. COSTA, V. A.; NOGEURA DE SÁ, L. A.; LA SALLE, J.; B. DE NARDO, E. A.; ARELLANO, F.; FUINI, L. C. 1999. Indigenous parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Jaguariúna, Sao Paulo State, Brazil; preliminary results. J. Appl. Ent. 123: 237- 240.
22. COSTA, V. A. 2000. Parasitoides da lagarta minadora dos citros. In: Encontro sobre minador das folhas dos citros (2000, Campinas, SP). Trabajos presentados. Campinas, Ministerio da Agricultura e Abastecimento. pp. 11-18.
23. DE BACH, P.; SCHILINGEN, E. 1979. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. México, CECSA. 949 p.
24. DIEZ, P. A.; FIDALGO, P.; FRIAS, E. 2000. *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae), a specific parasitoid on *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae); introduction and preliminary data on its performance in Argentina. Acta Ent. Chilena. 24: 69 –76.
25. DIEZ, P. A.; FIDALGO, P.; VIRLA, E. 2002. Relevamiento de parasitoides de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep.: Gracillariidae) en diferentes zonas citrícolas del noroeste argentino. In: Jornadas Científicas (19as., 2002, Tafí del Valle, Tucumán). Trabajos presentados. Tucumán, Asociación de Biología de Tucumán. p. 39.

26. DIEZ, P. A.; FIDALGO, P. 2003. *Cirrospilus neotropicus* sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae): an indigenous biocontrol agent of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Entomological News. 114 (2): 76- 81.
27. EBELING, W., 1959. Citrus pest in other countries. In: Subtropical Fruit Pests. University of California. Division of Agricultural Sciences. Ed. s.l. pp. 229-284.
28. EVANS, G. 1999. A new species of *Cirrospilus* (Hymenoptera: Eulophidae) and two new synonymies of parasitoids reared from the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Florida Entomologist. 82 (3): 448-453.
29. GARCÍA MARÍ, F.; COSTA COMELLES, J.; VERCHER, R.; CASTRILLÓN, D.; OLMEDA, T.; GARRO, R.; ALONSO, D. 1997a. Lucha biológica contra el minador. Levante Agrícola. 339 ( 2ª trimestre): 122–127.
30. GARCIA MARÍ, F.; COSTA COMELLES, J.; VERCHER, R.; GRANDA, C. 1997b. El minador de las hojas de cítricos: Presente y futuro de una plaga importada. Phytoma España. 92(10): 94-102.
31. GARCIA MARÍ, F.; GRANDA, C.; ZARAGOZA, S.; AGUSTÍ, M. 2002. Impact of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) on leaf area development and yield of mature Citrus Trees in the Mediterranean Area. J. Econ. Entomol. 95(5): 966-974.
32. GARCÍA MARÍ, F.; VERCHER, R.; COSTA COMELLES, J.; MARZAL, C.; VILLALBA, M. 2004. Establishment of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae) as a biological control agent for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Spain. Biological Control. 29: 215-236.

33. GARIJO, C.; GARCÍA, E. J. 1994. *Phyllocnistis citrella* (Stainton, 1856) (Insecta: Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistidae) en los cultivos de cítricos de Andalucía (Sur España): Biología, ecología y control de la plaga. Bol. San. Veg. Plagas. 20(4): 815-826.
34. GARRIDO, A.; GASCÓN, I. 1995. Distribución de fases inmaduras de *Phyllocnistis citrella* Stainton, según el tamaño de la hoja. Bol. San. Veg. Plagas. 21(4): 559-571.
35. GARRIDO, A. 1996. Plagas de los cítricos españoles que se disputan el mismo estrato vegetal que el minador de las hojas de los cítricos *P. Citrella* Stainton. Levante Agrícola. 335 (2º trimestre): 141-144.
36. GODFREY, K.; GRAFTON, B. 2002. Citrus leafminer in California Citrus. (en línea). California, California Department of Food and Agriculture. Consultado feb. 2006. Disponible en [http://www.cdfa.ca.gov/phpps/ipc/biocontrol/insects/16citrus\\_minimg-oths/cleafminer\\_citrus-may6-02](http://www.cdfa.ca.gov/phpps/ipc/biocontrol/insects/16citrus_minimg-oths/cleafminer_citrus-may6-02)
37. HEPPNER, J. B. 1993. Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella*, in Florida. Tropical Lepidoptera. 4(1): 49-64.
38. HEPPNER, J. B. 1995. Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) on fruit in Florida. Florida Entomologist. 78(1): 183-186.
39. HOY, M.; NGUYEN, R. 1994. Classical biological control of de citrus leafminer (CLM) in Florida; a progress report. (en línea). Florida, Integrated Pest Management . Consultado dic. 2005. Disponible en <http://www.ipm.ifas.ufl.edu/agricultural/fruit/citrus/clmhoy7.htm>

40. HOY, M.; NGUYEN, R. 1997. Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton. *Tropical Lepidoptera*. 8 (1): 1-19.
41. HUANG, J.; TANG, Y. 1996. Parasitoids as biological control agents for the citrus leafminer in southern China. In: International Conference Managing the Citrus Leafminer (1996, Orlando, Florida). Proceedings. Orlando, Florida. p. 85.
42. HUANG, M; TAN, B. 1996. Managing the citrus leafminer in China. In: International Conference Managing the Citrus Leafminer (1996, Orlando, Florida). Proceedings. Orlando, Florida. pp. 49 –52.
43. JERVIS, M.; HELMP, G.; FERNS, P.; HARVEY, J.; KIDD, N. 2001. Life history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of ovigeny. *Journal of Animal Ecology*. 70: 442 - 458.
44. KAMIJO, K. 1999. Composition of parasitoids of citrus leafminer in the world and South America, with key to species recorded from citrus leafminer in South America including introduced *Ageniaspis citricola*. In: The Fruit Tree Protection Project in the Oriental Republic of Uruguay .Report of short term expert. s.l. s.e.. 8 p.
45. KIDD, N.; JERVIS, M. 1996. Population dynamics. In: Insects natural enemies; practical approaches to their study and evaluation. University of Wales. School of Pure and Applied Biology ed. Cardiff, Chapman and Hall. School of Pure and Applied Biology. pp. 294–374.
46. KNAPP, J. L.; ALBRIGO, L.G.; BROWNING, H.W.; BULLOCK, R.C.; HEPPNER, J.B.; HALL, D.G.; HOY, M.A.; NGUYEN, R.; PEÑA, J.E. y STANSLY, P.A. 1995. Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton; current status in Florida. Gainesville, University of Florida. Cooperative Extension Service. 35 p.

47. LEGASPI, J.; FRENCH, V.; SCHAUFF, M.; WOOLEY, J. 1999. The citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in south Texas; incidence and parasitism. Florida Entomologist. 82 (2): 305-316.
48. LINARES, B.; HERNÁNDEZ, J.; MORILLO, J.; HERNÁNDEZ, L. 2001. Introducción de *Ageniaspis citrícola* Logvinovskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) para el control del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) en el estado de Yaracuy, Venezuela. Boletín de Entomología Venezolana. 16 (2): 143–145.
49. LLÁCER, E.; URBANEJA, A.; JACAS, J.; GARRIDO, A. 1998. Ciclo biológico de *Quadrastichus* sp., parasitoide exótico del minador de las hojas de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton, en laboratorio. Bol. San. Veg. Plagas. 24(4): 669- 678.
50. LONGO, S.; SISCARO, G. 1997. Recent approaches to the biological control of de citrus leafminer in Italy. Bulletin OILB/SROP. 20 (7): 71 –77.
51. MARGAIX, C.; JACAS, J.; GARRIDO, A. 1998. Parámetros de reproducción de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en condiciones controladas. Bol. San. Veg. Plagas. 24(2): 207-218.
52. MARGAIX, C.; HINAREJOS, R.; GARRIDO, A. 2000. Hibernación y ciclo biológico del minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton) en condiciones de campo. Bol. San. Veg. Plagas. 26(2): 269-275.
53. MARGAIX, C.; GARRIDO, A. 2000. Efecto de temperaturas constantes en el desarrollo de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Bol. San. Veg. Plagas. 26(2): 277-283.

54. MELLO GARCÍA, F., CARABAGLIE, M.; NOGUEIRA DE SÁ, L.; VARGAS CAMPOS, J. 2001. Parasitismo natural de *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 (Lepidóptero: Gracillariidae: Phyllocnistinae) no oeste de Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*. 45 (2): 139-143.
55. MILANO, P. 2002. Otimização da criação de *Ageniaspis citricola* Logvinosvskaya, 1983 (Hymenoptera: Encyrtidae) em laboratório e sua adaptação no estado de São Paulo. Tesis Maestre em Ciências. Piracicaba, Brasil. ESALQ. 68 p.
56. MINEO, G.; CALECA, V.; MASSA, B. 1998. *Semiela cher petiolatus* (Girault) (Hymenoptera: Eulophidae), natural antagonist of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) new for Italian entomofauna. *Naturalista sicil.* 22 (1-2): 3-6.
57. MONTES, S. M. N. M.; BOLIANI, A. C.; PAPA, G.; CERÁVOLO, L. C.; ROSSI, A. C.; NEMEKATA, T. 2001. Ocorrência de parasitoides da larva minadora dos citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, no Município de Presidente Prudente, SP. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo. 68 (2): 63-66.
58. NOGUEIRA DE SÁ, L.; COSTA, V.; PORTES DE OLIVEIRA, W.; RIBEIRO DE ALMEIDA, G. 2000. Parasitoids of *Phyllocnistis citrella* in Jaguariúna, State of São Paulo, Brazil, before and after the introduction of *Ageniaspis citricola*. *Scientia Agrícola*. 57(4): 799-801.
59. OTERO, A.; BERNAL, R.; GOÑI, C.; ARES, M.; VERDIER, E.; BRENANN, M.; ZEFFERINO, E.; SCATTOLINI, A.; CASSANELLO, M.; PEREZ, E. 2005. Estrategia Cancro Cítrico. In: Jornada de Difusión de Progreso de Actividades, Sanidad Cítrica

(2ª, 2005, Salto). Trabajos presentados. Salto, Convenio Cooperación Técnica INIA/DGSA7FA. pp. 5-7.

60. PEÑA, J.; DUNCAN, R.; HAROLD, B. 1996. Seasonal abundance of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoids in south Florida citrus. *Environ. Entomol.* 25(3): 698–702.
61. PINTERAU, B. .2002. Introducción al control biológico contra insectos y ácaros fitófagos. In: Enemigos naturales como reguladores de poblaciones de insectos; biodiversidad, conservación y manejo. César Basso y Adela Ribeiro eds. Montevideo, Facultad de Agronomía. pp. 33-43.
62. POMERINKE, M.; STANSLY, P. 1998. Establishment of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) for biological control of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida. *Florida Entomologist.* 81 (3): 361–372.
63. QUICKE, D. 1997. Parasitic wasps. London, Chapman and Hall. 470 p.
64. RAGA, A. 2000. Controle químico do minador das folhas dos citros. In: Encontro sobre minador das folhas dos citros (2000, Campinas, SP). Trabajos presentados. Campinas. Ministerio da Agricultura e Abastecimento. pp. 19-21
65. RIPOLLÉS, J. 1997. Estrategia de lucha contra el minador de los cítricos bajo el punto de vista de control integrado de plagas (II). *Levante Agrícola.* 341 (4º trimestre): 318-326.
66. RODRÍGUEZ, G; CERMELI, M. 1997. El minador de la hoja: nueva plaga de los cítricos en Venezuela. (en línea). Centro Nacional de investigaciones Agropecuarias. Maracay. Consultado ene. 2006. Disponible en <http://www.ceniap.gov.ve/vdigital/fdivul/fd58/minador.html>.

67. ROSENHEIM, J.; HEIMPEL, G.; MANGEL, M. 2000. Egg maturation, egg resorption and the costliness of transient egg limitation in insects. Proceeding of the Royal of London. Serie B. Biological Sciences. 267 (1452): 1565-1573.
68. RUIZ CANCINO, E.; MARTÍNEZ BERNAL, C.; CORONADO BLANCO, J. M.; MATEOS CRESPO, J. R.; PEÑA, J. 2001. Himenópteros parasitoides de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en Tamaulipas y norte de Veracruz, México, con una clave para las especies. Folia Entomol. Mex. 40 (1): 83- 90.
69. SÁNCHEZ, J.; CERMELI, M.; MORALES, P. 2002. Ciclo biológico del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en naranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck). Entomotropica. Boletín de Entomología venezolana. 17 (2): 167-172.
70. SCATONI, I.; ASPLANATO, G.; BENTANCOURT, C.; PAZOS, J.; SOLER, R.; FRANCO, J.; PAULLIER, J. 1999. Dinámica poblacional del minador de los brotes de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). In: Jornadas Técnicas de INIA Las Brujas (1999, Las Brujas, Canelones). Trabajos presentados. Las Brujas, INIA. 10 p. ( Serie de Actividades de Difusión no. 212).
71. SCHAUFF, M.E.; LASALLE, J.; WIJESSEKARA, G.A. 1998. The genera Chalcid Parasites (Hymenoptera: Chalcidoidea) of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Journal of Natural History. 32: 1001-1056.
72. SEGADE, G.2003. Aspectos biológicos del Minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en el noreste de la

provincia de Buenos Aires. (en línea). San Pedro, INTA. Consultado jul. 2005.  
Disponible en <http://www.inta.gov.ar/sanpedro>

73. SMITH, D.; BEATTIE, G. 1997. Citrus pests and their natural enemies. Integrated pest management in Australia. Queensland, HRDC/DPI. 272 p.
74. SMITH, D. & HOY, M. A. 1995. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Florida Entomologist 78(4): 600-608.
75. UJIYE, T.; KAMIJO, K.; MORAKOTE, R. 1996. Species composition of parasitoids and rate of parasitism of the citrus leafminer (CLM), *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Central and northern Thailand, with key to parasitoids of CLM collected Japan, Taiwan and Thailand. Bull. Fruit Tree Res. Stn. (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries). 29: 79-106.
76. UJIYE, T. 2000. Biology and control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Japan. (en línea). Japan Agricultural Research Quarterly. 34 (3): 167-173. Consultado nov. 2005. Disponible en <http://ss.jircas.affrc.go.jp/engpage/jarq/34-3/ujiye/ujiye.htm>
77. URBANEJA, A.; JACAS, J.; VERDU, M.J.; GARRIDO, A. 1998a. Dinámica e impacto de los parasitoides autóctonos de *Phyllocnistis citrella* Stainton, en la Comunidad Valenciana. Investigación Agrararia, Producción y Protección Vegetales. 13 (3): 409–423.
78. URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; HINAREJOS, R.; JACAS, J.; GARRIDO, A. 1998b. Sistema de cría del minador de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton y sus

parasitoides *Cirrospilus* próximo a *lyncus* y *Quadrastrichus* sp. Bol. San. Veg. Plagas. 24(4): 787–796.

79. URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; JACAS, J.; GARRIDO, A. 1998c. Ciclo biológico de *Cirrospilus* próximo a *lyncus*, parasitoide autóctono del minador de las hojas de los cítricos. Bol. San. Veg. Plagas. 24(4): 707-714.
80. URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; TOMÁS, O.; GARRIDO, A.; JACAS, J. 1999. Effect of temperature on development and survival of *Cirrospilus* sp. near *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Environ. Entomol. 28(2): 339-344.
81. URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; TOMAS, O.; GARRIDO, A.; JACAS, J. 2000. Indigenous natural enemies associated with *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Spain. Biological Control. 18: 199-207.
82. URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A.; JACAS, J. 2001. Effect of temperature on the life history of *Cirrospilus* sp. near *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Biological Control. 21: 293-299.
83. URBANEJA, A.; HINAREJOS, R.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A.; JACAS, J. 2002. Effect of temperature on life history of *Cirrospilus vittatus* (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Journal of Economic Entomology. 95 (2): 250- 255.
84. URBANEJA, A.; MORALES, C.; HERMOSO DE MENDOZA, A.; GARRIDO, A.; JACAS, J. 2003. Effect of temperature on development and survival of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Biocontrol Science and Technology. 13: 127- 130.

85. URBANEJA, A.; JACAS, J. 2003. Biología de *Citrostichus phyllocnistoides*, parasitoide exótico del minador de las hojas de los cítricos, *Phyllocnistis citrella*. Phytoma España. 153(11): 168- 169.
86. URBANEJA, A.; JACAS, J. 2004. Natural enemies associated with the exotic citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Spain. (en línea). Soc. Esp. Ent. Aplicada. Consultado ago. 2005. Disponible en <http://www.seea.es/conlupa/AlbertoWeb/portadanova.htm>.
87. URUGUAY. MINISTERIO DE GANADERIA, AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES ECONÓMICAS AGROPECUARIAS. 2003. La citricultura en el Uruguay; contribución a su conocimiento. Montevideo. 31 p.
88. VÁZQUEZ MORENO, L.; PÉREZ VICENTE, I. 1997. Introducción y dispersión del minador de la hoja de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton) en la Región Neotropical. Levante Agrícola. 338 (1º trimestre): 4-7.
89. VERCHER, R.; VERDU, M. J.; COSTA COMELLES, J.; GARCÍA MARÍ, F. 1995. Parasitoides autóctonos del minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* en las comarcas centrales valencianas. Levante Agrícola. 333 (4º trimestre): 306-312.
90. VERCHER, R.; VERDU, M. J.; COSTA COMELLES, J.; GARCÍA MARÍ, F. 1997. Autoctonous parasitoids of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* in Valencia (Spain). Bulletin OILB/SROP. 20(7): 102–106.
91. VERCHER, M.R. 2000. Control Biológico del Minador de las hojas de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Tesis doctoral. Valencia, España. Univ. Politécnica de Valencia. 183 p.

92. VERCHER, R.; GARCÍA MARÍ, F.; COSTA COMELLES, J.; MARZAL, C.; GRANDA, C. 2000. Importación y establecimiento de parásitos del minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Bol. San. Veg. Plagas. 26(4): 577-591.
93. VERDU, M.J. 1996. Chalcidoidea (Hymenoptera), parásitos del minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* (S) (Lepidoptera: Gracilariidae) en España. Levante Agrícola. 336 (3º trimestre): 227-230.
94. VILLIERS, E. A. 1998. Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton. In: Citrus pests in the Republic of South Africa. E.C.G. Bedford; M.A. Van Der Berg; E.A. Villers eds. s.l. pp. 187-189.
95. WILLINK, E.; SALAS, H.; COSTILLA, M. A. 1996. El minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* en el NOA. Avance Agroindustrial. 16 (65): 15-20.
96. WILLINK, E.; SALAS, H.; FIGUEROA, D.; ZAMUIDO, P. 1999. Manejo integrado del minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en el NOA. In: Jornadas Técnicas de Citricultura (1999, Concordia, Entre Ríos). Avance agroindustrial. Concordia, INTA. pp. 1-12.
97. YAMAMOTO, C. Y FOERSTER, L. 2003. Reproductive biology and longevity of *Euplectrus ronnai* (Brèthes) (Hymenoptera: Eulophidae). Neotropical Entomology 32(3): 481-485.