

# Taller Subregional de Control Biológico de *Diaphorina citri*, vector del HLB



**Taller Subregional de Control Biológico de *Diaphorina citri*,  
vector del HLB**

Coordinación:  
Allan Hruska  
Gustavo Bornemann  
Oficina Subregional de la FAO para Mesoamérica

**Compiladores**  
**Hugo C. Arredondo-Bernal**  
**Jorge A. Sánchez-González**  
**Marco A. Mellín-Rosas**  
Centro Nacional de Referencia de Control Biológico,  
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria,  
Dirección General de Sanidad Vegetal,  
SAGARPA-SENASICA, México



## Autores

Nombre	País	Contacto
Edgar White	Belice	ewhite@belizecitrus.org
Alexandre José Ferreira Diniz	Brasil	Universidad de Sao Paulo
Pedro Takao Yamamoto	Brasil	pedro.yamamoto@usp.br
Brayan Villalobos	Costa Rica	labagricola@ticofrut.com
		bryvillalobos@gmail.com
Daniel Arias	Costa Rica	cloo-n@hotmail.com
Dayana Villalobos	Costa Rica	dayi_506_@hotmail.com
		labdiagnostico@ticofrut.com
Donovan Brown	Costa Rica	hdonovanbrown@me.com
Hernán Camacho	Costa Rica	hcamachov@hotmail.com
Juan Delgado	Costa Rica	jdelgado@ticofrut.com
Luis Guillermo Vargas	Costa Rica	vcartage@racsa.co.cr
Michel Soto	Costa Rica	labagricola@ticofrut.com
		maicolsoto@gmail.com
Paulo Faerron	Costa Rica	bruno.zachrissons@idiap.gob.pa
Ruth Leon	Costa Rica	rleongcr@yahoo.com
Jawwad Qureshi	Estados Unidos	jawwadq@ufl.edu
Phill Stansly	Estados Unidos	pstansly@ufl.edu
Ru Nguyen	Estados Unidos	Ru.Nguyen@freshfromflorida.com
Enilda Catalina Cano Vásquez	Guatemala	enildacano@yahoo.com
Rogelio Trabanino	Honduras	rtrabanino@zamorano.edu
Xavier Isaac Euceda Fúnez	Honduras	Universidad Nacional de Agricultura
Hugo C. Arredondo Bernal	México	hugo.arredondo@senasica.gob.mx
		hcesar_64@yahoo.com.mx
Jorge A. Sánchez González	México	jorge.sanchez@senasica.gob.mx
		j_asg2@hotmail.com
Marco A. Mellin Rosas	México	marco.mellin@senasica.gob.mx
		mellinma@prodigy.net.mx
Bruno Zachrisson	Panamá	bruno.zachrissons@idiap.gob.pa

# Taller Subregional de Control Biológico de *Diaphorina citri*, vector del HLB



Panamá, 2013



El presente documento es una compilación de los resúmenes presentados por los autores participantes en el Taller denominado “Control biológico de *Diaphorina citri*, vector del HLB: Recomendaciones para Centroamérica” organizado por la FAO en colaboración con la empresa Ticofrut en Muelle de San Carlos, Costa Rica del 5 al 7 de septiembre del 2011.

“El contenido y los puntos de vista expresados en los diversos trabajos que se presentan en este documento son responsabilidad exclusiva de los autores y no representan necesariamente el criterio general de la FAO, SENASICA o los compiladores de este documento.”

Fotografía de portada: Adulto hembra del parasitoide *Tamarixia radiata* sobre una ninfa del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*. Dicha fotografía es propiedad del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, SENASICA, México. Tomada por el Ing. Jorge A. Sánchez González.

# ÍNDICE

Presentación .....	7
--------------------	---

## Sección 1

<b>HUANGLONGBING DE LOS CÍTRICOS: ESTATUS Y MANEJO</b> .....	9
1. HLB en Costa Rica: historia, progreso y situación actual .....	10
2. Plan de Manejo Integrado del HLB en TicoFrut y Frutan .....	12
3. Diagnóstico del HLB en TicoFrut .....	14
4. Situación actual del HLB en Honduras .....	16
5. Manejo do HLB no Brasil com enfoque no controle de psílídeos .....	20

## Sección 2

<b>CONTROL BIOLÓGICO DEL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS</b> .....	25
6. Programa de control biológico del psílido asiático de los cítricos en México	
7. Control biológico en Panamá: situación actual, líneas de investigación, condiciones de los laboratorios y datos de incidencia de <i>Diaphorina citri</i> y <i>Tamarixia radiata</i> .....	26
8. Investigación sobre el control de psílidos en TicoFrut .....	32
9. Presencia de <i>Tamarixia radiata</i> (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático <i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Psyllidae) en cultivos cítricos en Costa Rica .....	34
10. Estrategias de control biológico en TicoFrut para el combate del HLB .....	36
11. Uso de <i>Tamarixia radiata</i> para o controle biológico de <i>Diaphorina citri</i> .....	38
12. Biologically based management of asian citrus psyllid to reduce spread of Huanglongbing in Florida .....	41
13. Methods of rearing <i>Tamarixia radiata</i> in Gainesville, Florida, with information on its biology .....	45
14. Métodos de reproducción de <i>Tamarixia radiata</i> en TicoFrut .....	48
15. Generación de tecnología para el manejo de <i>Diaphorina citri</i> mediante el uso de hongos entomopatógenos .....	53
16. Laboratorio de Hongos Benéficos en TicoFrut .....	55
17. Instituto de Educación e Investigación en Cítricos (Citrus Research and Education Institute [CREI]) .....	58
.....	60

## Sección 3

<b>RECOMENDACIONES DE LOS EXPERTOS Y GRUPOS DE TRABAJO</b> .....	62
--	----



## PRESENTACIÓN

La enfermedad “Huanglongbing” o “HLB”, es una enfermedad devastadora de la citricultura a nivel mundial y está afectando fuertemente los cítricos del continente americano. La enfermedad es causada por una bacteria del grupo *Candidatus Liberibacter* que obstruye los vasos del floema de la planta, causando síntomas de deficiencia de nutrientes y consecuentemente la muerte de la planta. La bacteria es transmitida por el psílido asiático de los cítricos (PAC), *Diaphorina citri*, que es el blanco de esfuerzos para controlar la enfermedad. Hoy en día la enfermedad se encuentra desde la Florida hasta Brasil y se ha reportado en casi todos los países centroamericanos. No existen variedades comerciales de cítricos resistentes a la enfermedad y la presencia de un sólo individuo de *D. citri* puede transmitir la enfermedad, por lo que el manejo del vector se vuelve complicado

Una de las opciones de control, especialmente para la producción en pequeña escala de cítricos, es el control biológico. Se ha trabajado ampliamente con *Tamarixia radiata*, principal agente de control biológico del psílido asiático de los cítricos, en varios países para aumentar sus poblaciones y hacer liberaciones en el campo. Las tecnologías de multiplicación son variables (desde tecnología sofisticada hasta tecnología muy básica) y se reportan resultados muy promisorios. Además, se ha generado tecnología para el uso de hongos entomopatógenos contra poblaciones del PAC.

En apoyo al control de la enfermedad en Mesoamérica, la FAO en colaboración con la empresa TicoFrut, organizó un seminario-taller en Costa Rica para reunir especialistas, investigadores y gerentes de programas nacionales con el objetivo de presentar y discutir prioridades para programas de control biológico del PAC. Los participantes compartieron las investigaciones más recientes de sus países y las experiencias en la implementación de programas de control biológico contra *D. citri*. Participaron expertos e investigadores de Centroamérica, Brasil, México y los Estados Unidos de América.

Esta publicación da a conocer, para acceso al público en general, la información presentada en el taller y un resumen de las discusiones, conclusiones y recomendaciones. Las presentaciones están organizadas como resumen en su idioma original (español, portugués o inglés).

Se espera que la información pueda ser de utilidad para los investigadores, autoridades fitosanitarias, gerentes de empresas, productores citrícolas y proyectos en la sub-región Centroamericana, con la esperanza de mejorar el manejo del psílido asiático de los cítricos y contribuir con ello a una citricultura sostenible en Mesoamérica.

*Allan Hruska*

**Oficial de Producción y Protección Vegetal**  
Oficina Subregional de la FAO para Mesoamérica



## Sección

# HLB de los cítricos: Estatus y Manejo







## HLB en Costa Rica: historia, progreso y situación actual

Dr. Donovan Brown. TicoFrut, 1 Km de La Bomba de Muelle de San Carlos, Costa Rica.

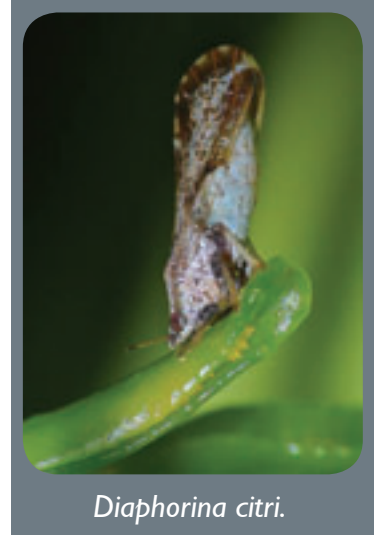
En el 2004 el investigador William Villalobos encontró por primera vez al psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), en Costa Rica, específicamente en los viveros de TicoFrut. Pero fue hasta el 2006 que el Ing. Bolívar Torres de TicoFrut, detectó psílicos en campo. Estos dos hallazgos motivaron a TicoFrut a iniciar las gestiones de manejo preventivo para el Huanglongbing (HLB) de los cítricos. En enero de 2007 se tuvo la visita de los Doctores Juliano Ayres y Pedro Yamamoto del Fondo para la Defensa de la Citricultura (FUNDECITRUS) de Brasil y Joseph Bové del Instituto Nacional de Investigación Agronómica (INRA, por sus siglas en Francés) de Francia a las plantaciones de TicoFrut con el fin de obtener las recomendaciones más acertadas para direccionar los esfuerzos en el país. En mayo de ese mismo año, personal del Departamento de Investigación de TicoFrut, viajó a Sao Paulo, Brasil, para capacitarse en HLB. Al regreso de este viaje, se crea el grupo de monitoreo para HLB en TicoFrut. Posteriormente, se complementó el conocimiento adquirido con una visita a la empresa Southern Gardens en Florida, E.U.A., en agosto de 2007. Un mes más tarde se logró publicar el Decreto de Ley de Viveros que establece las normas y regulaciones que debe de tener un vivero de producción de cítricos ante la amenaza del HLB y donde los viveristas contaban con un plazo de 4 años para hacer la transición en sus sistemas de producción. En octubre de 2007, se envió a personal de la empresa a capacitarse al Laboratorio del Dr. Bové en el INRA, Francia, en el diagnóstico de HLB y CVC (clorosis variegada de los cítricos) y en diciembre de ese mismo año se inició el procesamiento de muestras en el Laboratorio de Diagnóstico de TicoFrut para la detección del HLB. Durante el 2008 se dio continuidad a la capacitación del personal, apoyándose principalmente en Southern Gardens, además se realizó un taller de capacitación al sector independiente con la presencia de tres especialistas de Florida, E.U.A., y



En el 2004 se detectó al psílido asiático de los cítricos en Costa Rica, principalmente en viveros de TicoFrut, por lo que en el 2007 se publicó el decreto de Ley de Viveros que establece las normas y regulaciones que debe de tener un vivero de producción de cítricos ante la amenaza del HLB. El control del psílido asiático de los cítricos fue iniciado en 2010 en TicoFrut y ha logrado reducir las poblaciones de la plaga de forma importante, pero no suficiente.



una asistencia de más de 150 productores costarricenses. A finales de ese año y con base en recomendaciones de diferentes especialistas se reestructura la metodología de monitoreo y a principios de 2009 se inician esfuerzos en el desarrollo de estrategias biológicas para complementar el control del psílido asiático de los cítricos. En septiembre de 2009, TicoFrut es invitado a participar en el International ACP-Biocontrol Task Force, del que es miembro activo. En el 2010 se aumentaron significativamente los recursos destinados al manejo del HLB y se inició el control químico del psílido asiático. Además se adquirió e implementó un qPCR para elevar la sensibilidad de detección del HLB en el laboratorio de diagnóstico. En enero de 2011, el equipo de monitoreo de TicoFrut encontró el primer árbol con HLB en Costa Rica y esto motivó la publicación de un decreto de emergencia que traza los lineamientos a seguir para el manejo del HLB en el país. TicoFrut ha encontrado, hasta agosto de 2011, cerca de 300 árboles positivos, distribuidos en varias plantaciones de la zona norte de Costa Rica. Todos los árboles encontrados han sido eliminados. El control de *D. citri* iniciado en 2010 ha logrado reducir las poblaciones del vector del HLB de forma importante, pero no suficiente. Se cambió el sistema de reproducción en vivero pasando a ser totalmente de ambientes protegidos y se aumentó la inversión en las estrategias de control biológico con el fin de lograr un Manejo Integrado real y sostenible.





## Plan de Manejo Integrado del HLB en TicoFrut y Frutan

*Ing. Juan Delgado. TicoFrut, 1 Km de La Bomba de Muelle de San Carlos, Costa Rica.*

El Plan de Manejo Integrado del Huanglongbing (HLB) en TicoFrut (Costa Rica) y Frutan (Nicaragua) se basa en 5 principios básicos: (1) material de siembra sano; (2) concientización; (3) control del vector; (4) monitoreo y diagnóstico; y (5) eliminación de árboles infectados. Se parte de la base de que el conocimiento genera compromiso, que no se puede vencer a un enemigo que no se conoce y que sin un esfuerzo multilateral es muy complicado salir adelante con la problemática que representa el HLB. Es por esto que constantemente se realizan capacitaciones a lo interno y a lo externo en las técnicas necesarias para el manejo de la enfermedad así como en las características de la misma y se facilita material de apoyo para aquellas personas que estén interesadas en utilizarlo.

Como parte del plan para enfrentar al HLB se tuvo un rol protagónico en la creación de la Comisión Nacional de Plagas y Enfermedades de los Cítricos en Costa Rica, que agrupa investigadores y técnicos del componente estatal, académico y productivo del país y que finalmente se constituyó en el comité de apoyo técnico para el Gobierno de Costa Rica en HLB.

Se cuenta con un equipo de monitoreo que entiende que el éxito del manejo oportuno de esta enfermedad reside en esta labor, donde si se es ineficiente es imposible encontrar HLB en etapas iniciales; asimismo se está implementando el método de plataformas de búsqueda de la enfermedad para aumentar de forma importante el rendimiento de esta labor. Se tiene un laboratorio de diagnóstico de HLB con qPCR y personal debidamente entrenado en la técnica e interpretación de resultados. Todos los árboles positivos se eliminan en no más de 48 horas desde que se pasa el resultado a los encargados de finca, sin importar si los árboles están próximos a cosecha. Se construyó un vivero en ambiente protegido para la reproducción de



El plan de manejo integrado en TicoFrut (Costa Rica) y Frutan (Nicaragua) se basa en cinco principios: material de siembra sano, concientización, control del vector, monitoreo y diagnóstico y finalmente en la eliminación de árboles infectados. El control químico del vector empezó desde el 2010 y durante el 2009 se inició con el desarrollo de estrategias biológicas de combate del psílido asiático de los cítricos, de forma que se puedan integrar como complemento en el manejo.



todo el material de siembra con yemas provenientes de árboles madre que desde hace 2 años se encuentran bajo malla; semestralmente se analizan para verificar que estén libres de HLB y otras enfermedades. El control químico del vector empezó desde el 2010 y durante el 2009 se inició con el desarrollo de estrategias biológicas de combate del psílido asiático de manera que se puedan integrar como complemento en el manejo de la plaga. Esto ha redituado en



Eliminación de árboles enfermos.

una disminución significativa de las poblaciones de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en el 2011. Asimismo se han desarrollado metodologías para campo y laboratorio que permiten cuantificar el impacto de las distintas medidas de control y que constituyen la base del mejoramiento continuo del manejo. Se construyó un modelo de predicción del comportamiento de la enfermedad para poder dirigir con mayor criterio la toma oportuna y acertada de decisiones y que se puede extrapolar a otras citriculturas del trópico. Por último, se sigue teniendo el reto de aumentar el nivel de integración de las diferentes estrategias de manejo, de incorporar a los productores independientes en el mismo y de lidiar con los desbalances ecológicos que el control químico genere. Es imprescindible lograr entender la forma de convivir con el HLB, aplicando todos los principios del manejo sin descuidar los demás elementos que son vitales para la producción de cítricos.



## Diagnóstico del HLB en TicoFrut

Daniel Arias y Dayana Villalobos. TicoFrut, 1 Km de La Bomba de Muelle de San Carlos, Costa Rica.

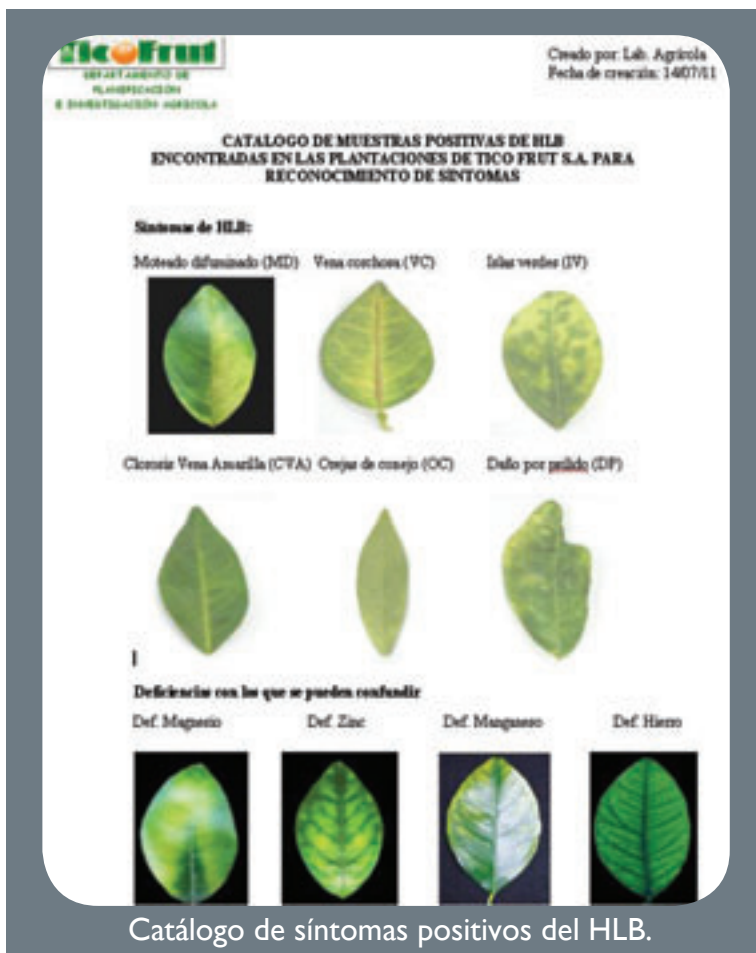
La detección de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en TicoFrut se realiza en el Laboratorio de Diagnóstico Agrícola. El proceso inicia en el campo donde el equipo de monitoreo busca árboles sintomáticos con Huanglongbing (HLB) y psílicos adultos. Una vez que los encuentran, toman las muestras respectivas, se identifican por fecha, finca, lote, monitoreador, síntomas y coordenadas. Las muestras son enviadas al laboratorio, donde el primer paso es el registro de la información de cada muestra en una base de datos, lo que permite darle trazabilidad a las mismas. Posteriormente se inicia el proceso de extracción de ácidos nucleicos totales y después el ADN de cada muestra se coloca en el qPCR para ser analizado. Los resultados obtenidos deben interpretarse y si son positivos se ingresan a una base de datos que notifica al encargado de la finca del hallazgo para que proceda a llevar a cabo la eliminación pertinente. Se han procesado 4,270 muestras de material vegetal y 8,326 muestras de psílicos adultos hasta agosto de 2011, para un total general de 12,596 muestras. De esas muestras hay 2,302 que se procesaron en PCR convencional y el resto se han hecho con el qPCR. Un 5.7% de las muestras vegetales procesadas desde 2008 han dado resultados positivos, lo que equivale a 242 árboles que en términos del total de árboles de las fincas de TicoFrut representan un 0.01% de infección encontrada. El laboratorio también le brinda servicio a viveros (certificación semestral de limpieza del material de propagación), al Laboratorio de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) y a productores independientes. Con las muestras positivas se construye un catálogo de síntomas para apoyar la capacitación y labor del equipo de monitoreo y el personal de fincas de TicoFrut y Frutan. El Laboratorio realiza investigación como la comparación del nivel de sensibilidad de detección entre el PCR convencional y el qPCR. En este caso se encontró que varias muestras con resultado positivo en el qPCR no amplificaban en el PCR convencional, comprobando la mayor sensibilidad del equipo de tiempo real. Se llevó



En este laboratorio se lleva a cabo la detección de *Candidatus Liberibacter asiaticus* en TicoFrut. El proceso inicia en campo, en donde se buscan árboles sintomáticos y psílicos adultos. Se toman las muestras, se identifican por fechas, fincas, lotes, síntomas y coordenadas. En el laboratorio se registra la información y se inicia el proceso de extracción de ácidos nucleicos totales. Con las muestras positivas se construye un catálogo de síntomas para apoyar la capacitación y labor del equipo de monitoreo y el personal de fincas de TicoFrut y Frutan.



a cabo una validación de la prueba de tinción de almidón, encontrándose que no es la más apropiada en nuestras condiciones, ya que puede llevar a una sobrestimación del HLB presente en las fincas. Se realizó un estudio de tiempos que permitió aumentar la eficiencia del proceso y el tiempo de respuesta, eliminando cuellos de botella por medio de la compra de equipo o el afinamiento de la gestión del personal. Actualmente se logró procesar un máximo de 492 muestras por semana, promediando 190 debido a que el volumen de muestras no es constante en el año. En conjunto con el Departamento de Tecnología de Información de TicoFruit, se construyó una base de datos que permite darle un seguimiento temporal y espacial a la enfermedad, su evolución y progreso. Esto es clave para poder lograr el entendimiento epidemiológico del HLB en TicoFruit. Finalmente, se cuenta con apoyo externo en términos de capacitación, soporte técnico y validación de protocolos y resultados por parte de investigadores y técnicos nacionales e internacionales.



Catálogo de síntomas positivos del HLB.



## Situación actual del HLB en Honduras

Ing. Xavier Isaac Euceda Fúnez. Programa HLB en Honduras.  
Honduras.

El Huanglongbing (HLB), también conocido como enverdecimiento de los cítricos, es una enfermedad causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. y transmitida por el insecto vector *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Esta enfermedad de los cítricos fue detectada por primera vez en Asia (China), a finales del siglo XVIII donde se reportaron severos problemas con una enfermedad descrita como “Muerte Regresiva” de los cítricos. A finales del Siglo XIX, se reportó una enfermedad similar en Assam, India y en 1912 era considerada un serio problema en la provincia de Bombay. La causa de esta enfermedad no era conocida.

En Honduras se detectó la presencia de *Candidatus Liberibacter asiaticus* por primera vez en dos árboles de cítricos de traspatio (*Citrus aurantium* L. y *Citrus aurantifolia* Christm.), ubicados en el municipio de Santa Fe, Departamento de Colón, en septiembre de 2009. Dicho diagnóstico fue realizado por el Laboratorio de Biología Molecular del USDA-APHIS a través de la metodología de PCR en tiempo real y convencional analizando muestras de tejido vegetal enviadas a los E.U.A. por el Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA) de la Secretaria de Agricultura y Ganadería.



Presencia de HLB en hojas de *Citrus*.

Entre las actividades realizadas para el control del HLB en Honduras están:



En Honduras se detectó la presencia del HLB por primera vez en dos árboles de cítricos de traspatio: *Citrus aurantium* y *Citrus aurantifolia*. Las actividades realizadas para su control en Honduras son: la creación de una Comisión Técnica Nacional del HLB, capacitación, divulgación, monitoreo, diagnóstico, control, certificación de viveros en casa malla antiáfidos y base legal.



## Creación de la Comisión Técnica Nacional de Huanglongbing

Con el propósito de coordinar la ejecución de las acciones de prevención o manejo fitosanitario de esta destructiva enfermedad y su vector se creó la Comisión Técnica Nacional del Huanglongbing enmarcada en el Reglamento de Diagnóstico, Vigilancia y Campañas Fitosanitarias del Acuerdo No. 002-98, Título Séptimo del Estado de Alerta y Emergencia Fitosanitaria, Capítulo I del Estado de Alerta, Artículos del 96 al 104.

La comisión está conformada de la siguiente manera:

- Dos representantes de la Subdirección Técnica de Sanidad Vegetal del SENASA, como la autoridad nacional competente quien la presidirá.
- Un especialista del sector público y privado expertos en la materia.
- Un Economista Agrícola.
- Un representante de las Asociaciones de Productores.
- Un representante de la Industria.

La Comisión designó como organismos de apoyo a todos aquellos sectores públicos y privados que están involucrados directa o indirectamente en la industria cítrica tales como:

- Instituciones de Educación Agrícola Superior (Zamorano, CURLA y UNA).
- Instituciones de Investigación y Transferencia (DICTA).
- Laboratorios de Diagnóstico Fitosanitario.
- Organismos Internacionales (OIRSA, FHIA y USDA-APHIS).

## Capacitación

Previo al inicio de las actividades de monitoreo del HLB a nivel nacional y su vector se realizó un taller de capacitación a los técnicos del SENASA, sobre las características del HLB y los psílidos vectores, incluyendo además otros problemas fitosanitarios de los cítricos (leprosis, tristeza, cáncer, clorosis variegada, plagas insectiles y ácaros, entre otros). El objetivo fue que los técnicos adquirieran los conocimientos para realizar las actividades de monitoreo y capacitación; hasta agosto de 2011, los técnicos han capacitado en HLB alrededor de 2,000 personas entre productores, estudiantes, autoridades municipales y particulares, asimismo se han realizado cabildos abiertos con el involucramiento de las alcaldías Municipales del Departamento de Colón.



Capacitación a técnicos sobre el HLB.

## Divulgación

Se han editado y publicado materiales técnicos relativos a la biología, síntomas, importancia económica, daños, metodología de muestreo, métodos de control del HLB y su vector, que sirven de guía para la detección e identificación de este problema fitosanitario, tanto





para técnicos como para productores; además se difunden spots de radio y anuncios televisivos para concientizar a todos los sectores involucrados sobre la prevención y manejo de la enfermedad y su vector.

El material elaborado y distribuido hasta agosto de 2011 es el siguiente:

- a. Afiches: 3,500 unidades.
- b. Trifolio: 6,000 unidades.
- c. Laminillas satinadas: 900 unidades.
- d. Spots de radio: uno (60 segundos) a través de dos emisoras a nivel nacional, repetidas 4 veces al día.
- e. Anuncios T.V.: uno en canales locales.

### **Monitoreo, Diagnóstico y Control**

Para realizar la exploración y muestreo, se conformaron varios grupos de trabajo con los organismos de apoyo mencionados, debidamente equipados y capacitados para la búsqueda y reconocimiento de los síntomas causados por el HLB, así como en el registro de datos y coordenadas de las fincas muestreadas.

El muestreo se hace de forma aleatoria tomando el 15% de las explotaciones citrícolas de cada región. La selección de los huertos a monitorear se hace prioritariamente de la siguiente manera:

- a. Naranja, mandarina, tangelo y tangerina.
- b. Pomelo, toronja y naranja agria.
- c. Limón y lima.

También se considerará la edad y localización de las explotaciones. Entre las actividades que se han llevado a cabo en Honduras para el control del HLB, están:

- Envío de alrededor de 2,000 muestras al Laboratorio de Referencia de Belice.
- 5,000 limonarias asperjadas y eliminados.
- 5,000 cítricos asperjados y eliminados.
- Instalación de 1,000 trampas para captura de *D. citri*.
- Trampas amarillas artesanales (Bio-tac).

### **Certificación de viveros en casa malla (malla antiáfidos)**

La introducción y diseminación de la enfermedad se realiza a través de material vegetativo infectado y por los insectos vectores. Una vez que se detecta la presencia de la bacteria, la medida de control recomendada es la eliminación de los árboles enfermos lo que significa que el sector debe estar preparado para la producción de plántulas para reponer las plantas eliminadas. Esto solamente se puede conseguir teniendo acceso a germoplasma vegetal de alta calidad libre de plagas y enfermedades que se puede obtener de la Universidad de California en E.U.A. y que debe de estar ubicado en facilidades de viveros completamente protegidos de donde se obtendrá el material para los viveros comerciales. Una vez que se obtiene ese material se procederá a la regionalización de los viveros comerciales los



cuales deben de estar ubicados en zonas no cítricas para garantizar la limpieza del material. Estos viveros son certificados por la institución gubernamental. En la actualidad Honduras cuenta solamente con un invernadero o vivero protegido que consta de 4 naves (4,000 m<sup>2</sup>) con capacidad para 120,000 plantas.

### **Base Legal**

El desarrollo del presente plan de acción está amparado por las siguientes leyes, reglamentos y acuerdos.

- Acuerdo Ministerial sobre Alerta Fitosanitaria de Emergencia No. 333-2009 del 11 de mayo de 2009.
- Acuerdo Ministerial para la creación del Comité Técnico Nacional HLB en gaceta 459-2009 del 06 de julio de 2009.
- Acuerdo Ministerial sobre declaratoria del HLB emergencia nacional.
- Acuerdo Ministerial sobre cuarentena interna de HLB.



## Manejo do HLB no Brasil com enfoque no controle de psilídeos

Pedro Takao Yamamoto Departamento de Entomologia e  
Acarologia ESALQ/USP.

Em março de 2004, foi relatada a ocorrência de plantas cítricas com sintomas semelhantes ao Huanglongbing (HLB), doença também conhecida por Greening, em pomares da região de Araraquara, no Estado de São Paulo. Apesar da semelhança dos sintomas com o HLB, os primeiros testes diagnósticos, baseados em regiões específicas da seqüência genética das bactérias causadoras da doença: *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Ca. Liberibacter africanus*, deram resultados negativos e intrigaram os pesquisadores envolvidos. Posteriormente, utilizando testes moleculares (Reação da polimerase em cadeia – PCR) com primers universais para detecção de bactérias, foi observada uma associação constante entre os sintomas observados e uma bactéria. Em julho de 2004, após o seqüenciamento e a análise do DNA da bactéria presente nos tecidos sintomáticos das plantas doentes, constatou-se que se tratava de uma nova forma de *Candidatus Liberibacter*, diferente da asiática e africana, denominada *Candidatus Liberibacter americanus*. Nessa mesma época, *Ca. Liberibacter asiaticus* também foi detectada em amostras provenientes de algumas regiões de ocorrência da doença, porém em pequena porcentagem das amostras analisadas.

Em setembro de 2004, *Ca. Liberibacter americanus* foi detectada no psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), posteriormente, em 2006, comprovou-se que *D. citri* é o vetor desta bactéria. Nesse mesmo mês, a bactéria foi encontrada



Estados com HLB no Brasil.



As estratégias preconizadas para o manejo da doença são: plantio de mudas sadias: as mudas devem ser produzidas a partir de material livre da bactéria em viveiros protegidos por tela antiafídica; eliminação do patógeno: as plantas com sintomas devem ser eliminadas e a inspeção da doença no pomar realizada durante todo o ano; controle do vetor: o controle químico do vetor deve ser intensificado na primavera e verão, períodos de aumento populacional de *D. citri*.



também em outro hospedeiro, *Murraya paniculata* L., conhecida como Murta, sendo o primeiro relato da ocorrência natural deste patógeno nesse hospedeiro.

### Locais de ocorrência

Até o momento, a doença foi constatada em mais de 260 municípios do Estado de São Paulo. Os municípios da região de Araraquara e de Araras são os mais problemáticos, com maior número de talhões com incidência da doença e de plantas sintomáticas. Nos municípios de constatação mais recente a incidência tem sido baixa, restringindo-se somente a algumas plantas nas propriedades.

Além de São Paulo, a doença também foi encontrada nos estados do Paraná e de Minas Gerais, e os demais estados ainda encontram-se livres da doença. Após a constatação no Brasil, a doença também foi relatada em outros países da América, tais como Estados Unidos, Cuba, República Dominicana, Belize e México.

### Sintomas

O sintoma inicial aparece geralmente em um ramo ou galho de um mesmo ramo primário, normalmente setorizado na planta, que se destaca pela cor amarela em contraste com a coloração verde das folhas dos ramos não afetados. As folhas do ramo afetado apresentam forte mosqueamento, com áreas ou manchas de coloração amarela pálida contrastando com áreas de coloração verde sem uma nítida divisão entre elas. Em alguns casos, ocorre clorose internerval. É comum observar o engrossamento



Controle químico do psíldeo no Brasil.

e o clareamento das nervuras da folha, que ficam com aspecto corticoso. Com o passar do tempo, há intensa desfolha dos ramos afetados, inclusive com surgimento de seca de ponteiros. Os sintomas podem aparecer em outros ramos da planta, tomando toda a copa da laranjeira. Também é comum a ocorrência de sintomas de deficiências de zinco e nitrogênio nas folhas de ramos afetados.

Frutos de ramos afetados são menores, deformados e assimétricos, e caem prematuramente. Às vezes, aparecem pequenas manchas circulares amarelas e verde-claras que contrastam com o verde normal do resto do fruto. Internamente, o fruto pode apresentar maturação irregular, ou seja, ter um dos lados maduro (amarelo) e o outro ainda verde. É comum a ocorrência de sementes abortadas. Cortando-se um fruto afetado no sentido longitudinal, é possível verificar que os feixes vasculares apresentam coloração alaranjada que partem



da região de inserção do pedúnculo. A parte branca da casca (albedo), em alguns casos, apresenta maior espessura quando comparada com a de um fruto sadio. Pressionando-se os frutos de ramos sintomáticos, observa-se a formação de mancha de coloração prateada no local pressionado. Os frutos afetados têm o tamanho reduzido e a qualidade do suco prejudicada, ficando mais ácido e com menor conteúdo de sólidos solúveis totais. O inverno as estações de melhor expressão dos sintomas, em conformidade com o que ocorre na África do Sul.

### Agente causal

Até a data de constatação do HLB no continente americano, eram conhecidas somente duas espécies de *Liberibacter*, *Ca. Liberibacter asiaticus* e *Ca. Liberibacter africanus*. A primeira, presente nos países asiáticos e agora no Brasil, é transmitida por *D. citri* e responsável pela forma mais destrutiva da doença. Caracteriza-se por ocorrer em plantios localizados em áreas com ampla faixa de temperatura. A segunda ocorre nos países africanos, em particular na África do Sul, é transmitida por *Trioza erythrae* (Del Guercio),



Observação de sintomas.

responsável pela forma menos severa da doença, e de ocorrência limitada a regiões de temperaturas mais amenas. A análise comparativa das seqüências de DNA das bactérias presentes no Brasil revelou que, além da forma asiática, estava presente uma nova variante de *Liberibacter*, com diferenças genéticas suficientes para ser considerada uma nova espécie (*Candidatus Liberibacter americanus*). Além de citros, a forma americana da bactéria foi detectada em Murta, uma planta ornamental pertencente à mesma família dos citros (Rutaceae), de origem asiática, e muito comum em propriedades citrícolas, ruas e praças públicas das cidades paulistas. A detecção de *Ca. Liberibacter americanus* em Murta levanta a suspeita de que este hospedeiro pode atuar como fonte de inóculo para os citros, além de já ser, sabidamente, uma excelente fonte de alimento do provável vetor, o psílideo *D. citri*.

### Vetor

O psílideo *D. citri* é o vetor da bactéria do HLB na Ásia. *Ca.* O primeiro relato da ocorrência de *D. citri* no Brasil se deu no início da década de 40, portanto, já está presente a mais de 60 anos. Contudo, até o ano de 2004 era considerada uma praga de importância secundária, sendo controlada somente em alguns locais onde a infestação era alta e que ocasionava danos, provenientes de sucessivas picadas feitas pelo inseto durante a alimentação nas folhas, causando o enrolamento e engruvinhamento das folhas e brotações, e a morte da gema apical, com conseqüente atraso no desenvolvimento da planta. O psílideo *D. citri* pertence à ordem Hemiptera e família Psyllidae. O adulto mede de 2 a 3 mm de comprimento, é de cor cinza com manchas escuras nas asas, e normalmente vive



por 3 a 4 meses, podendo chegar até 6 meses. Em outros países, foi observado que uma fêmea adulta pode depositar durante sua vida de 200 a 800 ovos. Os ovos, de coloração amarela, formato alongado, medem cerca de 0.3 mm de comprimento e são colocados agrupados entre as folhas novas. O período de incubação varia de 3 a 8 dias nas temperaturas de 30°C e 15°C, respectivamente.

Após o período de incubação, a ninfa passa por 5 estágios, que no total dura entre 11 e 40 dias. As ninfas são achatadas, amareladas



Sintomas de HLB.

e apresentam pernas curtas. O ciclo total, de ovo a adulto, é de 13 a 48 dias. Nas condições do Estado de São Paulo, o pico populacional do inseto ocorre no final da primavera/início do verão, mas a presença de *D. citri* pode ser observada durante todo o ano. A reprodução ocorre somente no período de brotação da planta, sendo os ovos depositados nos brotos novos, quando as folhas ainda estão fechadas. Apesar de presente no período seco e frio (outono/inverno), nestas estações a população é baixa com os adultos se alimentando e aguardando a emissão de novos brotos para iniciar a reprodução. No Brasil, ainda faltam estudos visando caracterizar melhor as relações existentes entre o vetor e o patógeno. Estudos sobre transmissão existentes no exterior apresentam dados bastante contraditórios. As informações indicam que a aquisição e inoculação da bactéria são bastante rápidas, sendo respectivamente de 30 minutos e uma hora ou mais. O período de latência da bactéria no vetor, tempo necessário para circulação e multiplicação do patógeno no vetor, é de 8 a 12 dias, mas há relatos de que este período pode ser de um ou 21 dias. Os estudos indicam que a eficiência de transmissão da bactéria pelo vetor é baixa, mas deve estar sendo compensada com as altas populações.

### Manejo da doença

A manifestação dos sintomas do HLB é maior no outono/inverno. Nessas estações deverá ser realizado um trabalho mais rigoroso de inspeção e eliminação de plantas sintomáticas, para que nas estações de maior ocorrência do vetor (primavera/verão) não haja inóculo onde o vetor possa adquirir o patógeno e conseqüente disseminar a doença. Apesar da visualização dos sintomas serem mais fácil no outono/inverno, o levantamento de plantas sintomáticas deve ser realizado durante todo o ano com a maior freqüência possível, principalmente naqueles talhões onde a doença já foi constatada.

Para redução do inóculo devem-se eliminar as plantas sintomáticas, independente da idade e da severidade, pois como verificado em outros países e também no Brasil, a poda de ramos sintomáticos ou mesmo a poda drástica da planta, com manutenção somente



do tronco, não tem sido efetiva para a eliminação do patógeno. Essa medida é obrigatória segundo Instrução Normativa no 53 da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Outra importante estratégia de manejo do HLB é a redução ao máximo da população de *D. citri*. Medidas de monitoramento devem ser implantadas nas propriedades para determinação do momento de ocorrência da praga. Para monitoramento podem ser utilizadas armadilhas adesivas amarelas ou avaliação visual da incidência de ninfas, ovos e adultos nas plantas.

Como o aumento da população de *D. citri* está condicionado aos fluxos vegetativos da laranjeira, todos os fluxos e novas vegetações devem ser protegidos, de modo a impedir a reprodução do vetor, que somente oviposita nos primórdios da nova brotação.

Em pomares novos, com idade até 3 anos, recomenda-se a utilização de inseticidas sistêmicos no período das águas, que podem ser aplicados no solo (granulados) ou dirigidos ao tronco da planta, e no período seco do ano, aplicação de inseticida de contato, protegendo sempre as novas brotações.

Em pomares em produção, o vetor deve ser rigorosamente monitorado e o controle químico deve ser empregado quando for constatada a presença de *D. citri*, principalmente quando as plantas estiverem vegetando ou na iminência de uma nova brotação.

Em resumo, as estratégias preconizadas para o manejo da doença são:

1. Plantio de mudas sadias: as mudas devem ser produzidas a partir de material livre da bactéria em viveiros protegidos por tela anti-afídica.
2. Eliminação do patógeno: as plantas com sintomas devem ser eliminadas e a inspeção da doença no pomar realizada durante todo o ano, com intensificação dos trabalhos no outono e inverno, período de maior facilidade de observação dos sintomas. Pelas razões já expostas, plantas de murta presentes nas propriedades citricolas também devem ser eliminadas.
3. Controle do vetor: o controle químico do vetor deve ser intensificado na primavera e verão, períodos de aumento populacional de *D. citri*.
4. Ressalta-se que as estratégias de manejo não funcionam isoladamente, devem ser utilizadas de maneira integrada e por todos os citricultores.



## Sección 2

# Control Biológico del Psílido Asiático de los Cítricos







## Programa de control biológico del psílido asiático de los cítricos en México

Jorge A. Sánchez-González y Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, CNRF-DGSV-SENASICA-SAGARPA, Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC. 28110 Tecomán, Colima, México.

El Gobierno de México a través del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) y la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) han puesto en marcha un Programa de Control Biológico del Psílido Asiático de los Cítricos como estrategia complementaria al manejo integrado del vector del Huanglongbing (HLB) de los cítricos. Desde finales del año 2009 a la fecha, las principales actividades comprendidas en este programa han sido la búsqueda y selección de agentes de control biológico de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), la producción masiva de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae), así como la liberación de parasitoides adultos en áreas específicas (cultivos sin aplicación de insecticidas, áreas urbanas, áreas de difícil acceso, huertas orgánicas, huertas abandonadas, cultivos de traspatio, huertas adyacentes a áreas urbanas, dentro de un programa de manejo integrado de plagas y en áreas o reservas naturales protegidas), la evaluación de la efectividad de agentes de control biológico en campo y laboratorio, la capacitación y divulgación sobre el reconocimiento y aprovechamiento de agentes de control biológico del psílido asiático de los cítricos, la asesoría en el diseño de laboratorios reproductores de *Tamarixia radiata*, el desarrollo de tecnología para optimizar el proceso de producción masiva de *T. radiata*, la investigación sobre haplotipos de *T. radiata* presentes en México y su impacto regional y finalmente el apoyo nacional e internacional con pies de cría de *T. radiata* y cepas de hongos entomopatógenos.

En relación a la reproducción masiva del parasitoide *T. radiata* y debido a los antecedentes del parasitoide como agente exitoso de control biológico, el SENASICA a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal y el Centro



El Programa de Control Biológico del Psílido Asiático de los Cítricos en México es un programa de referencia para otros países de América por sus características y alcances, entre los que destacan, la reproducción masiva y liberación de *Tamarixia radiata*, la aplicación intensiva de aislados de hongos entomopatógenos, los programas de capacitación nacionales e internacionales en el reconocimiento y aprovechamiento de agentes de control biológico del psílido asiático, entre otras actividades.



Nacional de Referencia Fitosanitaria han enfocado esfuerzos en el desarrollo de tecnología para la reproducción masiva del parasitoide, por lo que en 2009 se establecieron convenios de colaboración entre el SENASICA y los Comités Estatales de Sanidad Vegetal de Colima y Yucatán. El primer convenio tiene como objetivos la generación tecnológica para el uso de organismos benéficos como agentes de control biológico de *D. citri*, así como la producción de *T. radiata* en Tecomán, Colima; mientras que el segundo convenio tiene como objetivo único la producción



Adulto de *Tamarixia radiata* (hembra).

masiva de *T. radiata* en Mérida, Yucatán. Ambos convenios coordinados por el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) con sede en Tecomán, Colima.

Hasta agosto de 2011, el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico ha capacitado en el tema a más de 500 personas dedicadas a la investigación, docencia, estudiantes, técnicos y público en general, incluido el personal que integrará los tres próximos laboratorios reproductores de *T. radiata* ubicados en Tamaulipas, San Luis Potosí y Veracruz. Se ha trabajado con diversos países interesados como E.U.A., Brasil, Costa Rica, Guatemala y Argentina. Se ha colaborado con instituciones, centros de investigación y universidades como el Colegio de Postgraduados, Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA),



Infraestructura para la reproducción masiva de *Tamarixia radiata*. Tecomán, Colima, México.

Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados (CINVESTAV), Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Universidades como Chapingo, Nuevo León, Colima, Florida (E.U.A.), Comités Estatales de Sanidad Vegetal, entre otros.

### **Metodología de reproducción masiva de *Tamarixia radiata***

El proceso de reproducción masiva de *T. radiata* consta de tres fases: (1) producción de la planta hospedera; (2) producción de la plaga; y (3) producción del parasitoide. Una vez dominado el ciclo biológico de cada fase y brindando las condiciones adecuadas para su desarrollo, es posible obtener el producto final.



### Producción de la planta hospedera (área de *Murraya*)

Parte fundamental del proceso es contar con suficiente cantidad de planta hospedera apropiada para la reproducción de la plaga a parasitar. Para utilizar una planta hospedera en el proceso debe cumplir con los siguientes requisitos: (1) preferencia por la plaga; (2) gran cantidad de follaje; (3) gran cantidad de brotación; (4) rápido crecimiento; (5) resistencia al manejo; (6) facilidad de manejo; (7) resistencia a plagas y enfermedades; y (8) disponibilidad. Observaciones directas han demostrado que el mirto o limonaria (*Murraya paniculata* L.) posee dichas características en mayor grado comparada con otras especies de *Citrus* spp., razón por la cual en este proceso se utiliza y reproduce masivamente la limonaria como hospedero de *D. citri*.

El proceso de producción de *M. paniculata* inicia desde la colecta de semillas de plantas madre en áreas urbanas, dichas semillas son colectadas cuando presentan una tonalidad rojo intenso en la pulpa que las cubre, posteriormente son friccionadas sobre una superficie rugosa para separar la semilla de la pulpa, la semilla se seca a la sombra para posteriormente ser sembrada en almácigos o charolas de siembra, en esta etapa es conveniente brindar a las plántulas condiciones de media sombra y humedad suficiente para su adecuado desarrollo.



Vivero de producción de *Murraya paniculata* en Mérida, Yucatán, México.

A los dos meses después de la siembra o cuando la plántula tenga la primeras hojas verdaderas y una altura de 10 a 15 cm es posible trasplantarla a un recipiente donde permanecerá durante el resto de su vida, cabe señalar que dicho recipiente debe ser resistente al manejo intensivo que tendrá durante el resto del proceso. Una vez trasplantada la limonaria se pueden hacer fertilizaciones cada mes con triples fórmulas al suelo y formulas completas al follaje, a parte de las labores culturales requeridas para cualquier planta de vivero. A los 7.5 meses o cuando la planta tenga una altura mínima de 40 cm se le realizará la primera poda apical, cortando unos 5 cm, con la finalidad de estimular el crecimiento lateral de yemas y brotes apropiados para iniciar con la siguiente etapa. A los 8 meses, la planta tendrá brotación óptima y suficiente (mínimo 10 brotes de 0.5 a 3 cm de largo) para ser sometida a infestación por la plaga. Las condiciones ambientales en las que se ha desarrollado este proceso son  $30\pm 3$  °C y 40 a 60% de HR, además de que las plantas deben ser trabajadas bajo cubierta para evitar el contacto y dispersión de insectos plaga.

### Producción de la plaga (área de *Diaphorina*)

El siguiente proceso es realizado bajo una estructura protegida a manera de invernadero,



construida con malla antiáfidos y provista de puertas de doble acceso y cortinas de aire para evitar fugas de los organismos, asimismo se deben colocar dentro de la estructura una serie de trampas amarillas y plantas trampa que permitirán la captura de los psílicos que escapen del manejo.

**Infestación.** Una vez que se cuenta con planta suficiente y brotación adecuada podrá ser puesta en contacto con adultos de *D. citri* con la finalidad de que estos infesten en gran cantidad cada uno de los brotes tiernos. Este proceso se realiza en cubos de cría de acero inoxidable de 70 cm por lado cubiertos con malla antiáfidos y provistos de una puerta frontal que permitirá la entrada y salida de las plantas. Dentro de los cubos se manejan de 5 a 9 plantas y éstas se infestan con 200 psílicos adultos durante un promedio de 7 días.

**Pie de cría.** Esta etapa es determinante para contar con población constante de *D. citri* para infestación de planta, por lo que es necesario tener un pie de cría del psílido asiático. Para esto, en el CNRCB se manejan dos métodos de mantenimiento de pie de cría. El primero consiste en mantener una colonia del psílido bajo protección en una serie de árboles de limón mexicano frecuentemente podados y fertilizados; con estas actividades se logra tener brotación constante y escalonada en las plantas, lo que permite el desarrollo de múltiples generaciones del psílido durante todo el año. El segundo método consiste básicamente en mantener una colonia de psílicos en plantas de limonaria confinadas dentro de los cubos de cría antes mencionados, dichas plantas son renovadas y podadas para multiplicar y mantener el psílido de manera constante.

**Maduración de ninfas.** Después de la etapa de infestación es necesario separar las plantas de los psílicos adultos para mantener únicamente las oviposturas y primeros instares ninfales en desarrollo. Esta fase también se desarrolla en cubos de cría para permitir el crecimiento de las ninfas hasta tener el tamaño adecuado para ser parasitadas.

### Producción del parasitoide (área de *Tamarixia*)

**Parasitación.** Ya que se tienen las plantas infestadas con los instares ninfales adecuados para ser parasitados (del tercer al quinto instar), las plantas son transferidas a otro cubo de cría y otra estructura protegida por malla antiáfidos a manera de invernadero, diferente a la que se utiliza para la producción de la plaga. En esta etapa se introducen de 50 a 100 parasitoides, según el nivel de infestación, y se dejan actuar sobre las ninfas del psílido durante 10 días en promedio.



Lote de producción de *Tamarixia radiata*.



**Corte de brotes.** Transcurrido el tiempo suficiente para que las ninfas del psílido sean parasitadas en mayor cantidad, las plantas son retiradas de los cubos de cría y se les realiza una poda de cada uno de los brotes que se observan con ninfas parasitadas. Es importante mencionar que en esta etapa se debe tener extremo cuidado para evitar lastimar las ninfas parasitadas o cortar de más las ramas de las plantas y provocar el retraso en la recuperación de la misma. Los brotes cortados son colocados en hieleras para evitar su deshidratación y son llevados a la siguiente etapa.

**Extracción y colecta de los parasitoides.** Los brotes cortados con ninfas parasitadas son llevados a una sala donde son puestos dentro de cajas de extracción, oscuras totalmente en su interior, las cuales tienen un orificio en la parte superior o lateral que permite la entrada de un haz de luz artificial, mismo que atrae a los adultos del parasitoide recién emergidos por efectos del fototactismo. Estos adultos son colectados en recipientes de plástico o vidrio transparente, los cuales son colocados sobre el orificio de la caja de extracción. Otra forma de extracción del parasitoide es mediante la apertura de las cajas de extracción por la mañana y colectar el parasitoide en una de las ventanas de la habitación orientada hacia la salida del sol, de esta forma se optimiza la colecta y se ahorra energía.

Diariamente en la mañana y en la tarde los parasitoides son colectados de los frascos o ventana mediante un aspirador bucal con ayuda de una bomba de vacío. Los parasitoides son contados individualmente y son almacenados en cantidades de 50 o 100 en viales de plástico; a cada vial se le colocan finas gotas de miel pura sobre la superficie interna con la finalidad de brindar alimentación a los parasitoides adultos. Dicho material puede ser almacenado a una temperatura de 19 °C durante 10 a 15 días o puede ser liberado directamente en las zonas donde se requiera. Las condiciones de la sala de extracción son de 25±2 °C y 60±20% de HR con un fotoperiodo de 12:12 h.

**Liberación en campo.** Basta con transportar el parasitoide al punto de liberación dentro de hieleras con geles refrigerantes lo suficientemente aislados con papel absorbente para evitar el contacto directo con los viales donde se almacenan los parasitoides y reducir el riesgo de muerte por enfriamiento o condensación de humedad. Para distancias largas o mayor tiempo de almacenamiento es necesario alimentar los parasitoides con finas líneas de miel pura de abeja.





## Resultados y discusión

En el estado de Colima dicho programa inició operaciones a partir de enero de 2010 y al mes de septiembre de 2011 se han producido 1,373,645 parasitoides de *Tamarixia radiata*, alcanzando producciones de más de 187 mil individuos en el mes de mayo de 2011. En el estado de Yucatán, en el Laboratorio de Reproducción de *T. radiata* del sureste, el cual, inició oficialmente operaciones a principio de julio de 2010, se han producido un total de 3,730,530 parasitoides, registrando más de 523 mil parasitoides durante el mes de marzo de 2011. El primer laboratorio, ubicado en Colima, tiene como meta para 2011 la producción de 1.2 millones de parasitoides, mientras que el segundo laboratorio ubicado en Yucatán tiene una meta de producción de hasta 3 millones de parasitoides anuales. De igual manera, ambos laboratorios representan una referencia nacional e internacional por su tipo, capacidad de producción e infraestructura.



Cajas de extracción de *T. radiata*.  
Tecomán, Colima, México.

El proceso de producción de *Tamarixia radiata* desarrollado por el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico representa una tecnología de referencia para los interesados en reproducir éste parasitoide, sin embargo se ha observado que es posible optimizar y mejorar el proceso, es importante mencionar que entre los factores determinantes en el aumento de la producción es la disponibilidad oportuna de plantas de limonaria, el mantenimiento de un pie de cría constante y suficiente de adultos de *D. citri* y la optimización del proceso de colecta del parasitoide.



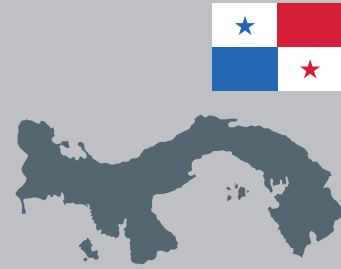
Liberación del parasitoide *Tamarixia radiata* en campo.



## Control biológico en Panamá: situación actual, líneas de investigación, condiciones de los laboratorios y datos de incidencia de *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata*

Bruno Zachrisson. Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Panamá, Panamá.

El Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), de acuerdo a Ley 51 del 28 de Agosto de 1975, tiene como objetivo “Normar todas las actividades de investigación agropecuaria del sector público, las ejecuta por sí por medio de la Universidad de Panamá o de otros organismos y orienta aquellas del sector privado”. La estructura programática del IDIAP presentada en el “Programa de Investigación e Innovación para la Competitividad del Agronegocio”, destaca dentro sus principales líneas de investigación, el control biológico de plagas e insectos vectores, en rubros de importancia económica, la cual es fortalecida por medio de sólidas vinculaciones con el sector productivo público y privado, con organismos nacionales e internacionales. Se destaca que una de las fortalezas del IDIAP radica en la vinculación estratégica con centros de estudios superiores nacionales e internacionales y con organismos internacionales, con sede en la región. La presencia de centros de investigación, divididos en Oriental (provincia de Panamá – 3 sub centros), Recursos Genéticos (provincia de Coclé – 3 sub centros), Central (Divisa – 4 sub centros), Azuero (provincia de Los Santos – 3 sub centros), Comarca Gnohe (Comarca Gnohe – 1 sub centro), Occidental (provincia de Chiriquí – 10 sub centros) y en el Trópico Húmedo (provincia de Bocas del Toro – 1 sub centro). Por lo que presenta apoyo en cuanto a infraestructura y personal especializado, en las principales zonas cítricas del país. En cuanto a la infraestructura próxima al aeropuerto, el Centro de Investigación Agropecuaria Oriental (CIAOr), tiene un laboratorio de entomología, en donde se concentran esfuerzos en investigación dirigidos a la multiplicación de parasitoides, por medio de dietas naturales y artificiales. El



Las poblaciones de *D. citri* son reducidas en las principales áreas con cítricos en Panamá. A la fecha, no se ha registrado la presencia de *T. radiata* en ninguna de las zonas cítricas. De manera semejante, no hay registro de la presencia del HLB, de acuerdo a los muestreos realizados por la Dirección de Sanidad Vegetal del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA).



cuerpo de investigadores en este centro, está formado por dos entomólogos (1 Ph.D. y 1 M. Sc.) y dos técnicos superiores; además se cuenta con el apoyo de dos entomólogos ubicados en Divisa y en la provincia de Chiriquí, lo cual es pertinente, considerando el apoyo en las principales zonas de producción de cítricos en Panamá. Los equipos especializados con que cuentan los laboratorios, incluyendo el de entomología del Centro de Investigación Agropecuaria Oriental (CIAOr), garantizan el éxito de proyectos que se enfoquen en la multiplicación y cría masiva de parasitoides y depredadores, así como los controles de calidad requeridos. Hasta agosto de 2011, se tiene experiencia probada en la multiplicación de *Trichogramma pretiosum* Riley, *Xantopimpla stemmator*, *Telenomus rowani* (Gahan), *Telenomus podisi* (Ashmead) y *Trissolcus basalis* (Woll.), entre otros.

Actualmente las poblaciones de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) son reducidas en las principales áreas citrícolas de Panamá (Coclé, Chiriquí); sin embargo en la provincia de Veraguas, en el distrito de San Francisco, corregimiento de El Espave, a 85 m.s.n.m. se encontraron densidades de 24 adultos/planta en una parcela de 8 hectáreas donde se muestreó el 10% de los árboles. Hasta agosto de 2011, no se han registrado reportes de *T. radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) en ninguna de las zonas citrícolas. De manera semejante, no hay registro de la presencia del Huanglongbing (HLB), de acuerdo a los muestreos realizados por la Dirección de Sanidad Vegetal del Ministerio de Desarrollo Agropecuario (MIDA).





## Investigación sobre el control de psílidos en TicoFrut

Ing. Paulo Faerron. TicoFrut, 1 Km de La Bomba de Muelle de San Carlos, Costa Rica.

La investigación sobre el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en TicoFrut se ha enfocado en evaluar diferentes productos químicos en campo, así como en condiciones controladas y a evaluar la eficiencia del uso de diferentes equipos de aplicación. El efecto residual y de choque de los productos en condiciones controladas fue evaluado por medio de las pruebas de eficacia biológica; estas consisten en el uso de jaulas de vidrio en las cuales se colocan dos plantas por jaula y se realizaban liberaciones de *D. citri* antes y después de la aplicación utilizando el protocolo desarrollado por el equipo de TicoFrut. Los ensayos en campo fueron evaluados según presencia (incidencia de la plaga en la zona evaluada) y la frecuencia (indica severidad) de adultos, ninfas y huevos de *D. citri* y de los organismos benéficos encontrados (coccinélidos, neurópteros y hongos entomopatógenos), siguiendo el protocolo de evaluación de campo. Para todos los productos utilizados se siguieron las recomendaciones de la Guía de Manejo de Cítricos de la Universidad de Florida, E.U.A. En una Unidad de Producción (denominada unidad 1) se realizó un ensayo comparando la aplicación de aceite agrícola en una dosis de 50 L/ha (en un volumen de caldo aplicado de 2600 L/ha con todas las boquillas abiertas de una radial Durand Wayland (DW) con la aplicación de cipermetrina y dimetoato comparando la efectividad de los tres productos para el control de *D. citri* y el efecto sobre los organismos benéficos. En otra Unidad de Producción (ubicada como unidad 2) se realizaron aplicaciones mensuales de aceite agrícola en una dosis de 40 L/ha en un volumen de caldo aplicado de 750 L/ha (con el mismo equipo anterior). Se encontró que las aplicaciones mensuales de aceite son capaces de reducir significativamente las poblaciones de *D. citri*, pero no generan un efecto total de choque y también afectaron la incidencia de hongos entomopatógenos sobre *D. citri*. Los insecticidas y el aceite agrícola en sus diferentes frecuencias no mostraron un efecto negativo sobre



El control de *Diaphorina citri* en TicoFrut se ha enfocado en evaluar diferentes productos en campo, así como en condiciones controladas y evaluar la eficiencia de diferentes equipos de aplicación. Los ensayos en campo fueron evaluados según presencia (indica la incidencia de la plaga en la zona evaluada) y la frecuencia (indica severidad) de adultos, ninfas y huevos de *D. citri* y de los organismos benéficos encontrados (coccinélidos, neurópteros y hongos entomopatógenos).



crisópidos y en el caso de la unidad de producción 2 tampoco sobre coccinélidos. En otra Unidad de Producción (unidad 3) se realizaron aplicaciones de zeta-cipermetrina y dimetoato con un equipo de ultra bajo volumen (UBV) que deposita un promedio de 30 L/ha y se comparó con las aplicaciones con radiales DW. Se realizó un análisis de control y un análisis económico para reconocer la eficiencia del UBV. Podemos asumir que no hay ningún efecto que diferencie el control de *D. citri* y de sus componentes, obtenido entre el UBV y la radial DW. Desde el punto de vista técnico se podría utilizar cualquiera de los dos equipos esperando obtener resultados de control muy similares. Con base al análisis de costos, existe un ahorro significativo en maquinaria al utilizar el equipo UBV en lugar de la radial DW en



Prueba de eficacia biológica de plaguicidas.

los atomizos de control de psílidos. Este ahorro se debe a tres factores: menor tiempo de llenado, mayor velocidad de la máquina y menor recorrido (calle por medio). En la Unidad de Producción 1 se aplicaron tres tipos de piretroides para el control de *D. citri* utilizando radiales DW. Se logró determinar que todos los piretroides obtuvieron efecto de choque significativo en las poblaciones de *D. citri* durante la primera semana después de aplicados. Los piretroides presentan una baja residualidad por lo que su efecto no persiste sobre el control del *D. citri*. Se logró observar como ninguno de los productos aplicados ejerció un control total sobre el psílido durante el tiempo de evaluación (4 semanas). Se realizó un ensayo en la Unidad de Producción Mefisa para comparar la efectividad de productos sistémicos y un producto translaminar sobre las poblaciones de *D. citri*. No se considera que la abamectina represente una buena opción como control de psílidos. No se encontró una diferencia significativa en el control entre las formulaciones OD y SL de Imidacloprid. Al no encontrar una diferencia significativa en el control, el precio de los productos marcará un factor sumamente importante para la selección de los productos por utilizar en la operación comercial. Ninguno de los productos aplicados generó una disminución sobre las poblaciones de crisópidos, lo que indica su alta resistencia y versatilidad como controlador biológico de *D. citri*. También se concluye que las aplicaciones de aceite agrícola disminuyen la presencia de hongos entomopatógenos en campo.



## Presencia de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en cultivos cítricos en Costa Rica

Ruth León González, Eugenia Fallas Trejos y Sara Rodríguez Hernández. Instituto Nacional de Investigación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA-Costa Rica). Costa Rica.

La búsqueda de la presencia de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en cultivos cítricos en Costa Rica, se realizó en el Pacífico norte de Costa Rica, en la provincia de Guanacaste, Cañas, Taboga, en una plantación de limón Mesina, *Citrus latifolia* Tanaka, durante el año 2009. El trabajo consistió en la recolecta de ninfas del psílido en campo, mismas que se criaron en el Laboratorio de Fitoprotección del Instituto Nacional de Investigación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA) con el propósito de identificar los parasitoides emergidos; se determinó que los parasitoides emergidos son *Tamarixia radiata*, lo que representa el primer reporte de esta especie asociada a *D. citri* en *Citrus latifolia* para Costa Rica.

### Introducción

En Costa Rica, el psílido asiático de los cítricos (PAC), *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), fue detectado durante el 2003, mientras que el Huanglongbing (HLB) se presentó en enero de 2011. En limón mesino, el PAC fue encontrado en 2008 aunque en la actualidad esta especie ha resultado negativa para HLB, sin embargo este cítrico ha presentado una serie de síntomas severos en los últimos cinco años, tales como hojas amarillentas y corrugadas; al igual que los brotes en los patrones, todas las ramas se fueron secando gradualmente, la floración fue menor y los frutos más pequeños, ovalados, endurecidos y más verdes de lo normal y con síntomas que en algún momento hicieron sospechar la presencia de la bacteria. Los resultados negativos para la bacteria sugieren que



En el presente trabajo se determinó la presencia de *Tamarixia radiata* por primera vez en la región Chorotega de Costa Rica, en febrero del año 2009. Los psílicos fueron recolectados en el Pacífico norte de Costa Rica, en la provincia de Guanacaste, Cañas, Taboga, en una plantación de limón mesina *Citrus latifolia* durante el año 2009. Se recolectaron ninfas del psílido en campo y se criaron en el Laboratorio de Fitoprotección del INTA.



estos síntomas son causados por la toxina de los insectos, lo cual la convierte en una plaga por sí misma. Por esta razón, la identificación de métodos de control, preferentemente biológicos, es básica para el manejo adecuado de este cultivo.

### **Determinación de parasitoides del psílido asiático de los cítricos**

Para determinar la identidad de los parasitoides que regulan las poblaciones del PAC se realizaron evaluaciones semanales de los brotes del limón mesina en los sitios de cultivo, entre enero y julio de 2009, observando síntomas de parasitismo en las ninfas en tres brotes por planta en 10 plantas. En el Laboratorio los brotes con las ninfas pequeñas (N1 y N2) y ninfas desarrolladas (N3, N4 y N5) parasitadas se colocaron en viales con agua para evitar la deshidratación dentro de cajas de cría de 20 x 20 cm, se siguió la evolución de ninfas parasitadas hasta emergencia de los adultos, los parasitoides se recolectaron con aspirador.

La identificación de los parasitoides emergidos la realizó el Dr. Paul Hanson, especialista en taxonomía de microhimenóptera de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, el cual inicialmente los identificó como *Tamarixia* sp. Posteriormente, la especie fue confirmada como *T. radiata*. Los miembros de este género son considerados enemigos naturales importantes para el control biológico del psílido. Esta especie no fue introducida oficialmente al país, pero se encuentra regulando las poblaciones del PAC en Guanacaste y podría ser útil en otras zonas donde se encuentre *D. citri*.

Para reconocer en el campo si las ninfas del psílido están parasitadas, se debe observar su coloración; cuando tienen una tonalidad rosada se consideran parasitadas. Si se observa un orificio es porque el parasitoide adulto salió a través del orificio, esto es importante para considerar la presencia y eficacia del parasitoide. Las medidas realizadas a los adultos de *T. radiata* variaron entre 1 y 1.23 mm de longitud.

Esta exploración reporta por primera vez la presencia de *Tamarixia radiata* en la región Chorotega de Costa Rica; su detección fue en febrero de 2009. Los ejemplares obtenidos se encuentran en la colección de artrópodos del INTA. Es imprescindible indicar que en la actualidad la reproducción masiva de este parasitoide de *D. citri* en los diferentes laboratorios de Costa Rica proviene de los ejemplares nativos capturados en la zona del hallazgo.



## Estrategias de control biológico en TicoFrut para el combate del HLB

Hernán Camacho V. TicoFrut, 1 Km de La Bomba de Muelle de San Carlos, Costa Rica.

La protección del ambiente es una política nacional en Costa Rica. En la actualidad consiste en el aprovechamiento sostenible de áreas protegidas, pero también se incentiva trasladar esta cultura a la producción agropecuaria.

TicoFrut, la más grande, organizada y exitosa empresa de cítricos, industrialización y comercialización de naranja del país y Centro América, adoptó esa práctica en sus actividades. Por esta razón ante el inminente arribo del Huanglongbing (HLB), la empresa inició un proceso de capacitación para el funcionamiento e implementación de un programa de manejo integrado (MIP) con un fuerte componente en la cría y reproducción de agentes biológicos, para reducir la población del psílido asiático de los cítricos (PAC), *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), transmisor de la proto-bacteria *Candidatus Liberibacter spp.*, causante de la enfermedad.

El programa de manejo integrado del psílido asiático utiliza cinco estrategias: (1) reproducción y siembra de material sano; (2) monitoreo de las poblaciones del transmisor y árboles y diagnóstico del material sintomático con PCR de tiempo real; (3) eliminación



Larva de Chrysopidae.

de los árboles enfermos; (4) combate del psílido asiático mediante tácticas químicas, biológicas y culturales; y (5) un programa de investigación y concientización.



TicoFrut inició un proceso para reducir la población de *Diaphorina citri*. Este programa de manejo utiliza cinco estrategias: reproducción y siembra de material sano; monitoreo de las poblaciones del transmisor y árboles y diagnóstico del material sintomático con PCR de tiempo real; eliminación de los árboles enfermos; combate del psílido mediante tácticas químicas, biológicas y culturales; y Un programa de investigación y concientización.



La etapa inicial del programa de control biológico (CB) consistió en la captura e identificación de potenciales enemigos naturales presentes en las plantaciones de naranja. En esta actividad se capturaron cucarachas (Blataria: Blatidae), dípteros depredadores de la familia Syrphidae, abejones depredadores comúnmente llamados “vaquitas” (de la familia Coccinellidae), crisópidos “carga-basuras” (Chrysopidae) y varias especies de hongos entomopatógenos.

La empresa inició esta labor por medio de la cría masiva y liberación del ecto-parasitoide exótico *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae), por su especificidad para controlar el PAC, la cría de una especie de crisópidos y los hongos *Bauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., *Trichoderma* spp. e *Hirsutela citriformis* (Speare).

La decisión de utilizar control biológico se deriva de una conciencia clara de la empresa de que la naranja es un producto sensible a la aspersión con insecticidas, a su alto costo financiero y a sus consecuencias en el equilibrio del agroecosistema por la muerte indiscriminada de organismos benéficos, el desarrollo de resistencia en la plaga, el posible resurgimiento de plagas secundarias y porque el control biológico es una ventaja competitiva en los mercados internacionales.

En la actualidad el Programa de Control Biológico de TicoFrut, cuenta con las instalaciones y equipo necesario para reproducir el PAC y el parasitoide; áreas para parasitar ninfas de *D. citri* con *T. radiata*, un pie de cría estable del parasitoide y dos grandes invernaderos cubiertos de malla antiáfidos para reproducir y mantener los hospederos que se usan para desove del psílido: *Murraya paniculata* (L.) Jack y *Citrus medica* L.

La raza de *T. radiata* de TicoFrut, deriva de 670 ninfas parasitadas importadas del Laboratorio del Departamento de Agricultura del Estado de Florida (en Gainesville, Florida, E.U.A.). El 50% del material importado se incorporó a jaulas de cría en laboratorio y el otro grupo se liberó en sendos lotes de una plantación joven de naranja (Unidad de Producción 20). Tres meses después de su liberación el parasitoide había colonizado plantaciones de naranja hasta 15 km del sitio original. La evaluación de colonización mostró porcentajes entre el 2 y el 40% de ninfas parasitadas. Pese a esos resultados, la adversidad climática producida por el fenómeno de “La Niña” y problemas en la producción de ninfas, impidió una liberación sostenida de parasitoides. No obstante hay evidencias claras de que la evaluación del parasitismo no fue exhaustiva, por lo que se asume una subestimación del porcentaje real de parasitismo.



Cítrico afectado por colonia de *Diaphorina citri*.



El principal problema en la producción ocurrió en la cría masiva del PAC en los seis módulos (jaulas grandes con 1000 plantas hospederas cada uno). Esto condujo al establecimiento de un programa de control de calidad para determinar en forma rápida y eficiente las condiciones abióticas (temperatura, humedad relativa, luminosidad) y bióticas (los estadios del ciclo de vida del PAC y del parasitoide) que afectan la baja producción y su corrección.

La eficacia de la liberación del parasitoide en las plantaciones se determinó revisando 20 brotes en uno de cada cuatro árboles de una misma calle (fila), (cuatro o cinco árboles por calle, 80-100 brotes por calle), analizando cinco calles por lote lo que implica un total de 400 a 500 brotes por lote, en 5 lotes de cada unidad de producción.

Los resultados mostraron información interesante. En una evaluación realizada el 12 de diciembre de 2010 en el lote 3 de la unidad de producción 7 se encontraron únicamente 14 brotes con ninfas (3.5%). En ellos sólo hubo 17 ninfas: 2 ninfas parasitadas, 11 en estadios N1-2 y 3 ninfas en estadio N3. No hubo ninfas N4 ni N5. El hecho de que no aparecieran ninfas en N4-5 es un dato interesante que hace suponer la presencia de otros enemigos naturales. En evaluaciones realizadas en la misma unidad de producción en marzo y abril de 2011, se encontraron sólo seis y trece brotes con ninfas, con 92 y 159 ninfas respectivamente; ninguna de ellas parasitadas, todas en estadios N1-N3 y ninguna en estadios más avanzados; esto demuestra que no se encontraron ninfas que pudieran originar psílicos reproductores. Una explicación a estos hallazgos parece ser la depredación que produce la población de crisópidos presentes durante la época seca. Esta evidencia sirvió de base para iniciar la construcción de un laboratorio para criar y liberar aumentativamente larvas de estos depredadores.

El HLB se encontró por primera vez en una plantación de TicoFrut en enero de 2011. Hasta la fecha se han localizado y eliminado sólo 242 árboles afectados por HLB, lo que indica que se tiene menos del 1% de árboles infectados. Esto contrasta con los resultados obtenidos en otros países, en los que informan que en una plantación de Sao Paulo, Brasil, había un 27.45% de infección a los nueve meses de haberse localizado el primer árbol enfermo.



## Uso de *Tamarixia radiata* para o controle biológico de *Diaphorina citri*

Alexandre José Ferreira Diniz, Gustavo Rodrigues Alves, José Roberto Postali Parra, Pedro Takao Yamamoto. Departamento de Entomologia e Acarologia, ESALQ/USP.

O Huanglongbing (HLB), ou greening, é a mais séria doença dos citros na atualidade, pois está presente em praticamente todas as regiões produtoras do mundo. Sua agressividade tem levado a citricultura a se preocupar com a continuidade do setor principalmente se não forem adotadas as medidas de manejo recomendadas. A doença está presente no Brasil desde 2004, quando foi encontrada na região Central do Estado de São Paulo, e hoje, encontra-se em todas as regiões produtoras de citros desse Estado estando ainda presente nos estados de Minas Gerais e Paraná. Em análise recente foi avaliado que apenas as ações de monitoramento e manejo do HLB representam cerca de 20% do custo de produção da caixa de laranja.

Segundo levantamento amostral, realizado em 2010 pelo Fundecitrus, o número de talhões com incidência da doença aumentou 56% em relação ao ano anterior, com 38.8%



Ciclo Biológico de *D. citri*.

dos talhões com presença de pelo menos uma planta sintomática e 1.87% de árvores com sintomas da doença. A possibilidade do psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) adquirir a bactéria de plantas doentes mas que, ainda não apresentam sintomas, é um fator agravante no aumento da disseminação e incidência



A doença está presente no Brasil desde 2004, quando foi encontrada na região Central do Estado de São Paulo, e hoje, encontra-se em todas as regiões produtoras de citros. Como ainda não existem ações curativas ou materiais efetivamente resistentes, o manejo da doença é realizado principalmente por meio da prevenção. São recomendadas três medidas básicas; utilização de mudas certificadas; erradicação imediata de plantas doentes; e controle do psilídeo vetor.





da doença, sendo que, são necessários pelo menos 30 minutos de sucção em uma planta doente para a aquisição da bactéria pelo psíldeo.

Como ainda não existem ações curativas ou materiais efetivamente resistentes, o manejo da doença é realizado principalmente por meio da prevenção. São recomendadas três medidas básicas; (1) utilização de mudas certificadas; (2) erradicação imediata de plantas doentes; e (3) controle do psíldeo vetor. Este último tem sido realizado quase que exclusivamente por meio da aplicação de inseticidas, tendo sido registrado um aumento no consumo destes agroquímicos de mais de 600% desde 2003 nos citros. O monitoramento constante do pomar é fundamental, uma vez que por meio dele o citricultor, irá realizar a eliminação de plantas sintomáticas ou mesmo de talhões altamente contaminados. A eliminação destas plantas é fundamental, pois se não houver fonte de inóculo, local onde o psíldeo possa se contaminar, não haverá transmissão da bactéria, cuja principal espécie no Brasil é *Candidatus Liberibacter asiaticus*. O monitoramento, também, é importante como ferramenta de tomada de decisão, para que o produtor possa realizar a aplicação de agroquímicos no momento adequado para o controle do vetor, evitando assim o uso excessivo destes produtos e uma possível contaminação ambiental.

Um dos problemas é que nem todos os citricultores têm realizado o manejo com o rigor que a doença exige, mantendo as plantas sintomáticas no campo e não realizando o controle do vetor. Essas plantas que são mantidas no pomar podem ser visitadas pelo psíldeo, que segundo pesquisas recentes são mais atrativas do que as plantas saudáveis e, com isso, maximizar a aquisição da bactéria e posterior disseminação para plantas saudáveis desse pomar ou de outros na vizinhança.

No ambiente natural ou em áreas sem aplicação de agroquímicos, o psíldeo é controlado por uma série de agentes, como fungos que causam doenças em insetos, predadores que se alimentam de vários insetos ou ainda parasitóides que são espécies que necessitam de um único inseto para produção de seus descendentes. O uso constante e excessivo de inseticidas pode prejudicar fortemente a ação destes agentes que poderiam realizar o controle do psíldeo sem custos para o produtor. No Brasil, acredita-se que não existam predadores agindo contra o psíldeo por eles serem muito susceptíveis aos produtos químicos aplicados hoje de forma irracional e maciça.

Um dos parasitóides mais importantes do psíldeo é a espécie *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae). Este inseto é uma vespinha que busca as formas jovens (ninfas) da praga que estejam próximas de se tornarem adultos e coloca seu ovo na parte inferior do corpo da ninfa. Deste ovo irá eclodir uma larva que passará a se alimentar do psíldeo e após alguns dias ele morrerá sobrando apenas parte de seu corpo, o qual o parasitóide utilizará para se proteger até se tornar adulto. Quando isto ocorre, ele perfura o corpo seco da ninfa deixando um orifício. Estas características são importantes na identificação, em campo, de ninfas do psíldeo que estejam parasitadas; aquelas que sofreram ataque do parasitóide apresentam um aspecto seco e sem brilho.



A vespinha *T. radiata* ataca apenas o psíldeo praga dos citros, e esta espécie de parasitóide foi utilizada com muito sucesso nos anos 70 e 80 em ilhas produtoras de citros no Caribe e África, nas quais com apenas uma pequena quantidade de insetos liberada foi possível controlar a praga.

No Brasil, a partir da detecção da doença foi sugerida a importação deste parasitóide para controle da praga; entretanto, levantamentos locais indicaram que ele já estava presente em diversas regiões produtoras paulistas com uma grande porcentagem de parasitismo natural em algumas regiões.



Este parasitóide apresenta alta eficiência de parasitismo, bem como uma grande capacidade de dispersão, estabelecimento e adaptação em campo. As fêmeas, além de parasitarem ainda se alimentam das ninfas mais jovens, podendo, uma única fêmea, destruir até 500 ninfas do psíldeo durante toda o seu ciclo de vida.

Uma das formas de utilização deste inimigo natural seria sua produção em grande quantidade em laboratório para liberação nos pomares infestados. No entanto, devido ao manejo rigoroso da doença, com aplicações freqüentes de inseticidas, é inviável devido à alta sensibilidade do parasitóide aos produtos químicos que são utilizados na citricultura. Inseticidas em geral, mesmo em doses menores que as recomendadas para controle de pragas em citros, causam 100% de mortalidade de *T. radiata*.

Uma das alternativas para a utilização de *T. radiata* seria sua liberação em pomares que não estão adotando estratégias de manejo do HLB ou naqueles que se encontram abandonados sem controle fitossanitário de pragas e doenças. Com um eficiente controle nesses pomares evita-se a dispersão do psíldeo, diminuindo dessa maneira a disseminação da doença.

Outro hospedeiro do psíldeo *D. citri* é a murta (*Murraya paniculata*), planta muito utilizada em arborização urbana, parques e cemitérios como cerca viva. Estes áreas também podem servir como fontes de disseminação de psíldeos; no entanto, como são locais onde não é realizada a aplicação de inseticidas eles também podem ser excelentes pontos para



liberação e multiplicação desse parasitóide podendo assim contribuir para diminuição da população do vetor e evitar que o mesmo migre para as áreas citrícolas.

O controle biológico, com o uso de *T. radiata*, pode ser uma importante ferramenta no manejo do HLB, ao lado das demais já utilizadas, inclusive inseticidas, desde que observados aspectos de seletividade e período de carência. A liberação do inimigo natural em áreas com baixo ou nenhum manejo fitossanitário, poderá promover um controle eficiente do psíldeo nestes locais e permitir que os parasitóides se disseminem para áreas vizinhas.

Estudos preliminares têm mostrado que esta estratégia pode ser muito promissora; liberações nestas áreas abandonadas permitiram um aumento no parasitismo em até seis vezes. Novos estudos devem ser desenvolvidos no sentido de determinar o melhor momento, quantidade e formas de liberação do parasitóide para obter melhores resultados. Estudos de seletividade, definindo os produtos mais seletivos também devem ser conduzidos e nas áreas com liberação do parasitóide somente aqueles agroquímicos menos agressivos devem ser utilizados.



*T. radiata* e *D. citri*.



## Biologically based management of asian citrus psyllid to reduce spread of Huanglongbing in Florida

Jawwad A. Qureshi and Philip A. Stansly. Department of Entomology and Nematology, University of Florida/IFAS Southwest Florida Research and Education Center (SWFREC) 2685 SR 29N, Immokalee, FL 34142, USA.

The asian citrus psyllid (ACP), *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) vectors *Candidatus Liberibacter asiaticus*, a bacterium which causes huanglongbing (HLB) or citrus greening disease. ACP and HLB were discovered from Florida in 1998 and 2005, respectively. Both pest and disease are now well established in Florida and pose a serious threat to the citrus industry. Vector control is critical to slowing spread of HLB and biological control is an important



*Diaphorina citri* (adult).

component of the management program for this pest disease complex. To assess the impact of biotic and abiotic factors on psyllid populations in citrus groves we conducted field studies in 2006-2007 which showed 5-27 fold reduction in psyllid populations mainly due to predation by insects and spiders. *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae), a species-specific ectoparasitoid of *D. citri* nymphs, has been effective in providing significant reduction in ACP populations on the islands of Reunion, Guadeloupe and Puerto Rico. *T. radiata* was imported from Taiwan and South Vietnam and released in Florida 1999-2001. Our investigation during 2006-2007 showed that the parasitoid was established throughout the citrus growing region of the state, although parasitism rates were variable, averaging <20% and lowest during spring and summer when psyllid



Both pest and disease are now well established in Florida and pose a serious threat to the citrus industry. *Tamarixia radiata*, a species-specific ectoparasitoid of *D. citri* nymphs, has been effective in providing significant reduction in ACP populations on the islands of Reunion, Guadeloupe and Puerto Rico. Overall, significant progress has been made in developing integrated strategy for vector management after discovery of HLB or citrus greening in Florida.



populations are high. Therefore, we brought in *T. radiata* from Pakistan, South China and North Vietnam and initiated a mass rearing and release program using these new colonies and already established *T. radiata* originally brought in from Taiwan and South Vietnam. We mass rear the Florida colony at UF-Southwest Florida Research and Education Center, Immokalee, FL and the other colonies are currently housed at FDACS-DPI in Gainesville, FL. More than 350,000 adults of *T. radiata* from all 4 colonies



*Tamarixia radiata* (female).

were released during 2009-2011. Adults are released at a rate of 100 per 50 ml tube, and provided with a strip of honey-soaked tissue paper. Tubes with parasitoids are taken to the field in insulated coolers and tied to the branches of the trees at multiple locations within a block using a piece of flagging tape. We have observed two to three times more parasitism at release sites during spring and summer compared to pre-release levels or non-release sites, showing that mass release of *T. radiata* can potentially increase incidence of parasitism in the field. We are also working to mass rear *T. radiata* in the citrus groves by using large size cages to cover individual citrus trees. Trees are pruned to induce new growth and heavy infestation of psyllid nymphs followed by release of *T. radiata* in the cage. Parasitism in cages averaged between 72% and 81% during 2010. Parasitoids disperse through mesh from source trees to neighboring trees in the groves to parasitize psyllid nymphs and enhance mortality. Cooperative efforts with citrus producer OrangeCo, the Division of Plant Industry (DPI), and USDA-ARS are aimed at establishing large-scale mass rearing and release facilities to increase ACP mortality and reduce the incidence of HLB, particularly during spring when young shoots and psyllids are abundant and beneficial insects active and therefore vulnerable to insecticides. We also tested and proved the effectiveness of dormant spray tactic which has been widely adopted to control psyllid in Florida and recommended by National Science Foundation and Citrus Health Management Area (CHMA) program. This tactic uses foliar sprays of broad-spectrum insecticides to target psyllids during winter when mature trees are under dormancy and not producing new growth required for psyllids to reproduce and develop. Therefore, only adult psyllids are surviving or over-wintering. These applications are aimed at reducing pest populations and insecticide use in spring and summer when psyllid immatures are common and beneficial insects are most active. Our studies showed 10-15-fold reduction in ACP populations over 5-6 months into growing season following a single foliar application of broad-spectrum insecticides made during January and without any additional applications. Beneficials such as lady beetles, lacewings and spiders were equally common in treated and untreated plots because they were not affected by any additional applications. So this tactic is also aimed at conserving beneficial insects which



are essential component of integrated strategy to reduce psyllid populations and spread of HLB. We recommend that additional foliar sprays during the growing season should be warranted by monitoring results and made prior to anticipated new growth in citrus trees. Overall, significant progress has been made in developing integrated strategy for vector management after discovery of HLB or citrus greening in Florida.



## Methods of rearing *Tamarixia radiata* in Gainesville, Florida, with information on its biology

Ru Nguyen. Division of Plant Industry P. O. Box 197100  
Gainesville, Florida 32614, USA.

The asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae), a serious pest of citrus, was discovered in Boynton Beach, Florida in June 1998 (Hoy et al. 1999). Both adults and nymphs of *D. citri* suck sap from young foliage of citrus and orange jasmine. High numbers of *D. citri* feeding on young shoots can kill the growing tip and curl the leaves. *D. citri* is the vector of the phloem-restricted non cultured pathogen-*Candidatus Liberibacter asiaticus*- that causes Huanglongbing, probably the most destructive disease of citrus in the world (Bove 2006). Classical biological control of *D. citri* which involves importation, mass-rearing, and release of natural enemies of *D. citri* should be pursued to assist the IPM program in order to suppress the numbers of this pest.

### Growing orange jasmynes

Orange jasmine was used for mass-rearing of *D. citri* and its parasite, *Tamarixia radiata* Waterston. Seeds were collected from South Florida and sent to Gainesville. The seeds were then cleaned up and germinated in a



Orange jasmynes inside the greenhouse, Division of Plant Industry, Gainesville, Florida.

warm chamber for a week prior to being put in pots. They were fertilized bi-weekly with Peters (20-20-20) solution and Osmocote (14-14-14, a slow releasing fertilizer) every other month. The common pest of orange jasmynes in the greenhouses were two spotted spider mite (*Tetranychus*



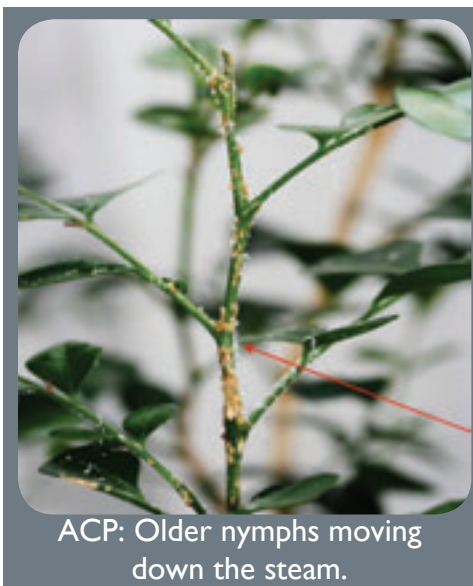
Classical biological control of *D. citri* which involves importation, mass-rearing, and release of natural enemies of *D. citri* should be pursued to assist the IPM program in order to suppress the numbers of this pest. Orange jasmine is used for mass-rearing of *D. citri* and its parasite, this plants are trimmed and fertilized and placed in a greenhouse. The plants were placed in a screened cage and infested with adults *D. citri*. When the majority of psyllids are at the 3<sup>rd</sup> or 4<sup>th</sup> nymphal stage were transferred into the parasite rearing cage.



*urticae* Koch), whitefly (*Aleuraoclava jasmini* (Takahashi), and cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch). The greenhouse must be kept clean and inspected regularly for the presence of pests. Whenever any pest was detected, the greenhouse must be sprayed with soap and oil or pyrethrum immediately. When the plants were about 1.5 to 2.0 feet (0.45-0.60m) (about 1 year old), they were trimmed, forcing them to have more branches and bushes.

### Rearing Asian citrus psyllid

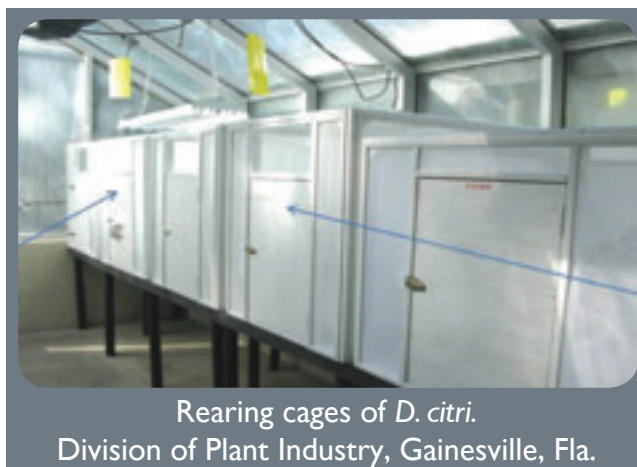
Orange jasmines were trimmed and fertilized and placed in a greenhouse for 2 weeks for sprouting to occur. When sprouts were about 1.5 – 2.0 inches (3.80-5.08cm), about 25-30 plants were placed in a screened cage (78x91x91 cm) and infested with 3,000-4,000 adults *D. citri*. Those psyllids were at least 4-5 days old. This oviposition cage was placed in a greenhouse with a temperature of  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , humidity of 40-60%. A florescent light (T5 Solar Flare VHO 44) was hung about 10 cm above the top of the cage, with light intensity more than 1,200 foot candles, and the light regime was 16L: 8D. The light is on at 6:00AM. The plants were kept in the oviposition cage for 3-4 days for psyllid depositing egg, then moved into holding cages in order to have the psyllid larvae develop. Young larvae were found on the tip of young sprouts, then they move down along the shoots.



ACP: Older nymphs moving down the stem.

### Rearing *Tamarixia radiata*

When psyllid nymphs reached to 3<sup>rd</sup> – 4<sup>th</sup> nymphal instar, about 9 days after the plants were infested with psyllids, when the majority of psyllids are at the 3<sup>rd</sup> or 4<sup>th</sup> nymphal stage, about 30 plants were transferred into the parasite rearing cage (78x91x91 cm) and inoculated with about 250 males and females of *T. radiata*. The cage was housed in a room with the temperature of  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , and humidity of 40-60%. A florescent light (T5 Solar Flare VHO 44) was hung about 14 cm above the cage.



Rearing cages of *D. citri*.  
Division of Plant Industry, Gainesville, Fla.

The light regime in the room was 16L:8D and on at 6:00 AM. The plants were watered every 2-3 days, due to the low humidity in the room.





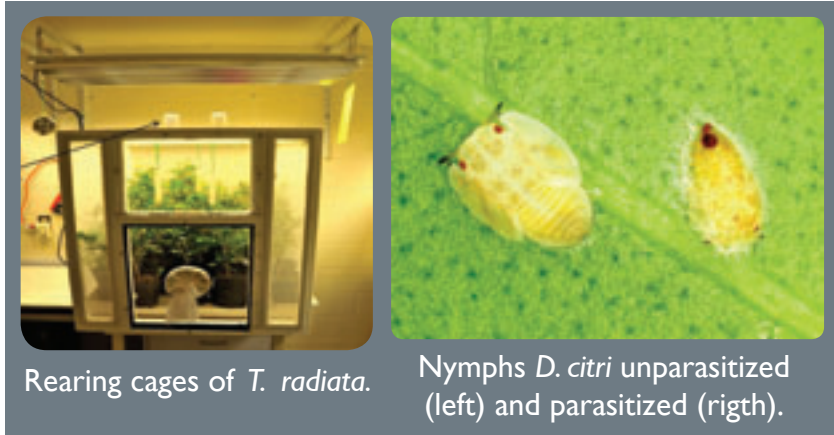
### Collecting parasites from rearing cage

Three to four days after parasites emerge (13-14 days after parasites were inoculated in the cage) the cage was covered with a black cloth by 8:30 AM. Two 12-0z clear plastic vials were inserted onto the cage through holes drilled on the top of it. Parasites were attracted to the light and crawled into the vials. Vials with parasites were taken out from the rearing cage every hour, brought to a light box for sorting and aspirated into vials for shipping.

With this method we collected more than 90% of parasites emerging in the cage. A cage (78x91x91 cm) housing 30 1-gallon pots of orange jasmine produced about 10,000-15,000 *T. radiata*, with an extremely low number of adult psyllids are found in the vial.

### Biology of Psyllids

Husain and Narth (1927) intensively studied the biology and the ecology of *D. citri* and reported that psyllids have 3 stages: Adult, egg and nymph. Nymph has five instars.



Rearing cages of *T. radiata*.

Nymphs *D. citri* unparasitized (left) and parasitized (right).

**Egg:** Color: pale yellow. Shape: almond shape,

elongated, thicker at the basal end. Length: 1/3mm. Egg duration: 3-4 days at 27 °C. Eggs are only laid on the tender shoots in large number of the host.

**Nymph:** Five nymphal instars. Duration of each stage: 1s: 2 days, 2nd: 2 days, 3rd: 4 days, 4th: 3 days, 5th: 3 days. Total: 14 days.

**Adult:** Male: The tip of the abdomen is bent upward. Female: The tip of abdomen is straight, coming to a point. A female may lay over 800 eggs during the first 2 months of her life span of 6.

### Biology of *Tamarixia radiata*

*Tamarixia radiata* was described as *Tetrastichus radiates* by Waterston in 1922 from host materials –*Diaphorina citri*- on lemon leaves collected in Punjab, Pakistan and It was synonymied by Boucek in 1988 as *Tamarixia radiata* (Waterston 1922, Boucek 1988). *Tetrastichus indicus* Khan & Shafee 1981 was synonymized by Hayat and Shahi (2004) as *T. radiata*.



Adult female of *T. radiata*.



*T. radiata* is found in many counties in Asia and was imported into Reunion Island, Taiwan, Guadeloupe and Florida (USA) for the biological control of *D. citri*.

According to Chien and Chu 1996, it is an arrhenotokous ecto-parasitoid. The female deposits a single egg on the ventral surface of *Diaphorina citri* nymph, between thorax and abdomen. The egg is light yellow and elongate oval. Females prefer to lay eggs on 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> nymphal stage, but will also parasitize young nymphs. Sex ratio is better if the progenies develop on the large 5<sup>th</sup> instar. The newly hatched larva sucks fluid from the site where it is closely attached to the psyllid's integument. During the second instar, the parasite crawls onto the ventral aspects of psyllid's thorax and feeds. By the time the parasite is mature, it has sucked out all the contents of psyllid and the psyllid becomes mummified. The psyllid mummy turns dark brown and attaches to the leaf or the branch with white filament secretion around the periphery of the body. The white filament is secreted by the mature larva of the parasite. The parasite molts to pre-pupal then pupal stage. The adult parasite cuts a round hole on the dorsal thorax to emerge. The sex ratio is varied (4:6); more females than males. In the rearing, females emerge first, then males. A female may deposit about 160-300 eggs during her life span (14-24 days). Life cycle from egg to adult at 27 °C and 16L: 8D is 10-11 days. *T. radiata* is also a host feeder. It may kill about 200 nymphs of *D. citri*. So, during its life span a female of *D. citri* may kill more than 500 psyllid nymphs by a combination of host feeding and parasitism. Parasites also feed on honey.



Exit hold of *T. radiata*.

The life span of parasites fed with honey lasts 25-30 days, and unfed lasts 1-2 days.

### **Hyperparasites:**

Several hyperparasites belonging in several families were reported in Taiwan (Chien and Chu 1996):

- Aphelinidae: *Encarsia near shafeei*  
*Marietta leopardina* Motschulsky
- Encyrtidae: *Syrphophagus taiwanus* Hayat & Lin
- Eulophidae: *Tetrastichus* sp.
- Signiphoridae: *Chartocerus walker* Hayat
- Pteromalidae: *Pachyneron concolar* (Förster)

However, the percent of parasitism was less than 1%. Hyperparasites have not yet been reported in Florida.



### Host range of *T. radiata*

*T. radiata* is a very specific parasite. It has only one reported host: *D. citri*. Peter *et al.* 1990 reported that *T. radiata* was a primary parasite of *Psylla hyalina* on *Albizia labeck* (Indian walnut) in India. As requested by M. A. Hoy and R. Nguyen in 1999, Dr. John LaSalle (John.LaSale@csiro.au) re-examined the voucher specimen and wrote that "I spent some time re-examining it in this morning, and comparing it with other specimens, and I would now think that it is not *T. radiata* ... so, the *Psylla hyalina* is indeed close to *T. radiata*, but I would have to now consider it as a distinct (and probably unnamed) species".

Annecke and Cilliers (1993) recorded that *T. radiata* as a parasite of *Trioza erythrae* (Del Guerio) in South Africa. Later, McDaniel and Moran (1972) wrote that specimen collected in south Africa from *T. erythrae* did not fit the original description of *T. radiata* and was referred as *T. ? radiatus*.

*T. radiata* host range test was conducted by R. Nguyen on 5 psyllid species (*Ceropsylla sideroxyli*, *Glycaspis brimblecombei*, *Heteropsylla cubana*, *Trioza magnolia* and *Pacchypsylla* sp.), that were collected in Florida in 2009 and concluded that none of these psyllids were host of *T. radiata*.



Dr. Ru Nguyen,  
Expert in biological control. Division of Plant Industry, Gainesville, FL.



## Métodos de reproducción de *Tamarixia radiata* en TicoFrut

Michael Soto. TicoFrut, 1 Km de la Bomba de Muelle de San Carlos, Costa Rica.

En el 2010, TicoFrut construyó un laboratorio dedicado a la reproducción de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae). Este laboratorio tiene tres componentes principales: las plantas, los psílidos y *T. radiata*. Si los tres componentes están debidamente alineados el resultado obtenido es la producción de *T. radiata* que pueden ser liberadas en el campo para contribuir a la reducción de las poblaciones del vector del Huanglongbing (HLB). El método utilizado consiste inicialmente en el mantenimiento y preparación de las plantas en invernaderos para ser expuestas a psílidos que ovipositen en sus brotes tiernos. Estos psílidos se reproducen en un invernadero dividido en 6 módulos de reproducción. Cuando las plantas poseen brotes adecuados son introducidas en los módulos. Una vez que los brotes poseen huevos (4 a 5 días), estos son trasladados a módulos sin psílidos donde se deja que los huevos maduren a ninfas N3 y N4. En este punto, se escogen las plantas que presenten más ninfas y se trasladan a jaulas ubicadas en los cuartos de reproducción de *T. radiata*. Cada jaula alberga 6 plantas y en cada una se introducen 150 individuos de *T. radiata*. Las plantas se dejan 8 días en las jaulas y posteriormente se procede a cortar los brotes con ninfas, los cuales se colocan en cámaras de extracción que mediante fototactismo permiten cosechar a los parasitoides emergidos todos los días. Se toman de 4 a 8 muestras semanales de la colonia de laboratorio de psílidos para ser procesadas en el Laboratorio de qPCR para HLB como medida de aseguramiento del laboratorio. Esta es una medida de bioseguridad imprescindible en cualquier laboratorio que tenga la producción de psílidos como componente. La investigación realizada encontró que la ubicación de las plantas en los módulos es determinante para la producción de psílidos siendo las partes superiores de los módulos las que permiten obtener mayores niveles de oviposición, probablemente debido a la mayor incidencia de luz en estos sectores. Se encontró que los



TicoFrut construyó en el 2010 un laboratorio dedicado a la reproducción de *Tamarixia radiata*; el laboratorio tiene tres componentes principales: plantas, psílidos y *Tamarixia*. El principal método consiste en el mantenimiento y preparación de las plantas en invernaderos cerrados para ser expuestos a psílidos que ovipositen en brotes tiernos. Se encontró que los dos mejores hospederos son *Citrus medica* (citron etrog) y *Murraya paniculata* (limonaria o mirto).



dos mejores hospederos son *Citrus medica* L. (citron etrog) y *Murraya paniculata* (L.) Jack (limonaria o mirto). El brote ideal en citron es de 2 cm y se obtiene 12 días después de haber realizado la poda de estimulación en las plantas; en mirto es de 3-4 cm obteniéndose a los 14 días de la poda. Se está desarrollando un método de reproducción que tiene como base el brote en lugar de la planta y con el que se estima que se pueden aumentar sustancialmente los niveles de producción por jaula. Las pruebas preliminares de este método son promisorias. Se encontró que el uso de dieta complementaria para *T. radiata* permite aumentar significativamente los niveles de producción y que en ausencia de la misma, *T. radiata* presenta fuertes niveles de depredación, lo que compromete el parasitismo que es el objetivo principal del sistema. Se observó que la emergencia de



Emergencia de *Tamarixia radiata*.

*T. radiata* no es exclusiva a la unión cefalotorácica de la ninfa sino que en ocasiones puede emerger por debajo de la misma. Esta observación plantea una posible subestimación de los niveles de parasitismo, si estas estimaciones sólo se basan en las emergencias clásicas del parasitoide. El envío de *T. radiata* hacia sus sitios de liberación es delicado y debe mejorarse en términos logísticos y técnicos para poder tener un aprovechamiento total de la producción. Se han logrado aumentar los indicadores de rendimiento del laboratorio y se espera que con mejoras en infraestructura estos puedan aumentar aún más.



## Generación de tecnología para el manejo de *Diaphorina citri* mediante el uso de hongos entomopatógenos

Marco A. Mellín-Rosas y Hugo C. Arredondo-Bernal. Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, CNRF-DGSV-SENASICA-SAGARPA, Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC. 28110 Tecomán, Colima, México.

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), es una plaga cítrica importante de amplia distribución mundial. En México se registró la presencia del psílido asiático de los cítricos en Campeche, durante 2002. De ese tiempo a la fecha, este psílido se encuentra distribuido en la mayoría de las regiones cítricas más importantes de México y su control está basado en el uso de agroquímicos y liberaciones de insectos entomófagos.

El control biológico, es una estrategia que juega un papel importante en la reducción de la densidad de población de plagas agrícolas, además de que implementar su uso coadyuvaría a disminuir el deterioro ambiental ocasionado por las aplicaciones constantes de agroquímicos.

Los hongos entomopatógenos han demostrado que son agentes potenciales en el control de plagas agrícolas, muestra de ello es que los encontramos actuando naturalmente contra plagas agrícolas de importancia económica como: pulgones, mosquitas blancas, escamas, langosta, mosca pinta de los pastos, entre otras, por lo que estos pueden ser una alternativa al uso de plaguicidas en el control de *D. citri*.



Adulto de *Diaphorina citri* infectado por *Metarhizium anisopliae*.

Ante esta situación el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), a través



Los hongos entomopatógenos empleados contra de *D. citri* son una alternativa segura y efectiva de control biológico de esta plaga. Ante ésta situación se estableció un programa que contempla entre otras cosas el uso de hongos entomopatógenos, con las siguientes líneas de investigación: exploración y selección de aislados, evaluaciones de rendimiento y formulados en campo, así como pruebas de bioseguridad.



de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) y del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), estableció un programa dirigido a la búsqueda de alternativas útiles para mantener bajas las poblaciones del psílido asiático de los cítricos, con el propósito de incorporarlas a un programa de manejo integrado de *D. citri*; en este proyecto se contempla el uso de los hongos entomopatógenos, así como de otros agentes de control biológico de esta plaga.

Para el desarrollo del programa se establecieron las siguientes líneas de investigación: (a) exploración de hongos entomopatógenos; (b) selección de aislados de hongos entomopatógenos candidatos para el control de estados inmaduros y adultos de *D. citri*; (c) evaluación de rendimiento de producción de conidios; (d) evaluación de formulación de hongos entomopatógenos; (e) evaluación de formulados en campo; (f) evaluación de equipos de aplicación; y (g) pruebas de bioseguridad.

El desarrollo de la primera línea de investigación consistió en la búsqueda de hongos entomopatógenos a través del análisis de brotes de cítricos infestados por *D. citri* y separación de individuos con síntomas de ataque de patógenos. Después de aproximadamente un año de trabajo, se concluyó esta fase sin ningún éxito. Por lo anterior se seleccionaron aislamientos de la Colección de Hongos Entomopatógenos del CNRCB que de alguna manera tuvieran relación con *D. citri*. A través del análisis de la base de datos de



Aplicación en campo de hongos entomopatógenos para el manejo de *Diaphorina citri*.

esta colección se determinó que el único nivel de relación entre aislamiento y *D. citri* era el origen patogénico, de tal manera que se tomaron los aislamientos que fueron obtenidos de insectos del orden Hemiptera; derivado de lo anterior, se trabajó con 12 aislados de *Isaria fumosorosea* Wize, 14 de *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin y 2 de *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill.

Como resultado de la fase de selección de hongos entomopatógenos, actualmente se cuenta con resultados promisorios de tres cepas de *I. fumosorosea* (clave Pf21, Pf17 y Pf15) y una de *M. anisopliae* (clave Ma59), mismas que se consideran candidatos para emplearse en el control microbiano de *D. citri*, dado que en pruebas de laboratorio registraron niveles de mortalidad del 93.01 al 100 % en ninfas y hasta 95.22% en adultos de *D. citri*.

A través de pruebas de inocuidad sobre enemigos naturales de *D. citri*, se ha comprobado que estas cepas de hongos entomopatógenos son inocuas a *Ceraeochrysa valida* Banks, *Olla*



*v-nigrum* Mulsant y *Aphis mellifera* L., lo que incrementa la confiabilidad de emplearlos como agentes de control biológico de manera extensiva.

También se han realizado evaluaciones preliminares en campo, donde se ha demostrado que las cepas seleccionadas pueden llegar a reducir entre un 48 a 90% las poblaciones de *D. citri*.

Las demás líneas de investigación se encuentran en proceso de desarrollo.





## Laboratorio de hongos benéficos en TicoFrut

Brayan Villalobos. TicoFrut, 1 Km de La Bomba de Muelle De San Carlos, Costa Rica.

Desde mediados de 2009, TicoFrut inició con el desarrollo de un laboratorio de hongos benéficos. Actualmente este laboratorio se dedica a la producción difásica de *Trichoderma* sp. y *Beauveria bassiana* (Bals. Criv.) Vuill., al desarrollo de investigación con *Hirsutella citriformis* Speare y al aislamiento de hongos benéficos para determinar sus posibles métodos de reproducción o para hacer pruebas de antagonismo. *Trichoderma* sp. es un hongo benéfico que contribuye con el control de enfermedades del suelo y aumenta el crecimiento

(altura y grosor de tallo) y precocidad de árboles de vivero. Las cepas que se reproducen actualmente provienen de los productos comerciales que mostraron las mejores



Cepa de *Trichoderma* sp.

características de virulencia, germinación y viabilidad. Por su parte, *B. bassiana* e *H. citriformis* son hongos entomopatógenos que se han encontrado en el campo controlando poblaciones de adultos y ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Se han hecho aislamientos directamente de insectos infectados y con base en ellos se ha construido el cepario actual de TicoFrut. Se realizan pruebas biológicas de patogenicidad de cada cepa para llevar a cabo la selección de las más infectivas. Una particularidad de este laboratorio es que desarrolla técnicas de reproducción difásica que utilizan como substrato sólido un subproducto de la industria de la naranja llamado albedo. La producción de *Trichoderma* sp. se hace con albedo y se han obtenido resultados muy exitosos con la producción de *B. bassiana*, sin embargo para



A mediados del año 2009 inició TicoFrut con el desarrollo de un laboratorio de hongos benéficos, el cual en la actualidad se dedica a la producción difásica de *Trichoderma* sp. y *Beauveria bassiana*, al desarrollo de investigación en *Hirsutella citriformis* y al aislamiento de hongos benéficos patogénicos para determinar sus posibles métodos de reproducción o para hacer pruebas de antagonismo.



este último todavía el sistema se está optimizando. En el caso de *H. citrifomis* se encontró que su reproducción se limita debido a que su crecimiento es poco agresivo en los medios estudiados hasta el momento, encontrándose que el medio en el que mejor se comporta es el llamado “Medio H”. Debido a su baja tasa de crecimiento, la reproducción de *H. citrifomis* se ve muy afectada por contaminantes como bacterias y levaduras. Al día de hoy, se han logrado obtener crecimientos aceptables de micelio pero muy reducidos en sinémas, que tienden a ser las estructuras más infectivas. Por otro lado, se han hecho aislamientos de *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds y de *Mycosphaerella citri* Whiteside, los cuales se han puesto a crecer en cajas Petri con diferentes cepas de *Trichoderma* sp. para poder determinar cuáles son las más promisorias para el control de estos fitopatógenos. Esa investigación está en desarrollo.



## Instituto de Educación e Investigación en Cítricos (Citrus Research and Education Institute [CREI])

*Edgar White. CREI/CGA, Belice.*

La industria cítrica de Belice está compuesta de aproximadamente 45,000 acres pertenecientes a 500 productores. La industria genera 10,000 empleos cada año en la época de cosecha, y se beneficia entre 40-50 mil personas, tomando en cuenta de 4 a 5 personas por familia. La industria cuenta con una procesadora de jugos capaz de procesar 10 millones de cajas al año, sin embargo por ahora sólo está procesando 7 millones de cajas. La industria genera US\$ 40-60 millones de dólares al año para el país y en los últimos años se ha considerado que esta industria genera más ingresos al país ya que ingresa el 22% de las ganancias en exportaciones.

Belice cuenta con una asociación de productores la cual provee ayuda financiera, asistencia técnica, renta de maquinaria, venta productos agropecuarios, entre otros servicios. Bajo la asociación está el Instituto de Investigación y Educación en Cítricos (CREI, por sus siglas en inglés) que provee servicios de extensión, diagnóstico de enfermedades e investigación para los productores. Los diagnósticos del Huanglongbing (HLB) se hacen gratuitamente para productores y países vecinos como Honduras y Guatemala. CREI también tiene establecido el Programa para Certificación de Cítricos y, aunque actualmente no hay viveros que estén produciendo plántulas, están en proceso de certificación.

El psílido asiático de los cítricos (PAC), vector del HLB, fue reportado en Belice en el 2005, sin embargo la enfermedad fue detectada en 2009 en psílicos y luego en material vegetal. Luego del hallazgo de la enfermedad, se lanzó una campaña de educación para los productores. Se inició un proyecto en colaboración con México para el monitoreo y eliminación de plantas de traspatio. Las plantas eliminadas fueron remplazadas con otro frutal que no era cítrico ya



El Instituto de Investigación y Educación en Cítricos (CREI) provee servicios de extensión, diagnóstico de enfermedades e investigación para los productores. Los diagnósticos para el HLB se hacen gratuitamente para productores y países vecinos como Honduras y Guatemala. CREI también tiene establecido el Programa para Certificación de Cítricos.



que no hay viveros certificados para producir cítricos. En el 2011 se empezó la campaña para el control del psílido en la cual se dividió la industria en 5 áreas. En estas áreas se realiza el monitoreo de la población así como el control del vector. Actualmente se ha hecho una aplicación para el control del psílido asiático en estado de dormancia en una área, misma que esta siendo monitoreada para determinar el efecto de la aplicación de insecticida en la población del psílido. El programa de monitoreo es relativamente nuevo y en estado de evaluación.

En términos de control biológico, Belice cuenta con una buena población de agentes biológicos. Aun no se han hecho evaluaciones de la efectividad y poblaciones de estos agentes. En el monitoreo diario se han descubierto momias de psílicos parasitados por *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) y psílicos infectados por el hongo *Hirsutella*. Belice no cuenta con un laboratorio para la producción masiva de *T. radiata* pero se está trabajando en conjunto con



OIRSA para la utilización de un laboratorio que produce *Anagrus kamali* Mourusi (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoide de la cochinilla rosada del hibisco *Maconellicoccus hirsutus* Green, y utilizar la misma infraestructura. Actualmente se acaba de sembrar *Murraya paniculata* (L.) Jack con el propósito de someterlas a infestación de *D. citri* y posteriormente someterlas a parasitación por *T. radiata*.

La industria cítrica contempla un presupuesto anual para el combate al HLB. También ha obtenido ayuda por parte del Gobierno de México para el combate en traspatio. El Gobierno de Belice está contemplando proveer a la industria cítrica con ayuda financiera para el desarrollo de proyectos de control del HLB.



# Sección 3

## Recomendaciones de los Expertos y Grupos de Trabajo



## Comentarios de la mesa de expertos:

El objetivo del taller fue compartir información para conocer la problemática regional del HLB y su vector en Centroamérica, y con base en ello definir prioridades para la mejor inversión de fondos en el control del HLB y su vector. Un planteamiento realizado con base en la información y comentarios generados en este taller fue: ¿Cuáles son las mejores estrategias para asignar fondos y tener éxito en las actividades a desarrollar?

### Perspectivas los expertos frente a la problemática en la región

Con base en la opinión de los participantes, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Por las características sociales y económicas que prevalecen en esta región, el control biológico tiene un potencial de uso muy amplio. Debe enfocarse principalmente en áreas donde no es posible hacer aplicaciones de insecticidas, áreas urbanas, cultivos orgánicos o donde simplemente el productor no tiene condiciones de hacer una aplicación de insecticida.
2. El control biológico no es sólo cría y liberación masiva, es mucho más, implica establecer y desarrollar técnicas de conservación de los agentes de control biológico. Los productores deben saber quiénes son sus aliados para que los preserve.
3. Explorar más las características tropicales de región para hacer mejor uso de los hongos entomopatógenos, y con ello buscar en qué zonas pueden ser más eficaces *Hirsutella*, *Isaria*, *Metarhizium* o *Beauveria*.
4. Es clave que cada país centroamericano tenga un sistema de reproducción de *Tamarixia radiata*, y compartir las experiencias de TicoFrut y México. El uso de hongos entomopatógenos es una alternativa a considerar, particularmente *Isaria fumosorosea* que ha mostrado mejores resultados. El sistema de control biológico clásico por sí mismo no es suficiente, por lo que se tiene que complementar con la estrategia de control biológico por aumento y por conservación.
5. Respecto a la localización de un laboratorio de producción de *Tamarixia radiata*, debería establecerse en una ubicación estratégica, en una región de clima que predominante para la mayoría de los países de Centroamérica, considerando el comportamiento del parasitoide (diferencia de comportamiento de clima seco-tropical) y una zona que facilite el transporte a diferentes regiones. Panamá es una opción para este proyecto de producción masiva de *T. radiata* debido a que está libre del HLB.
6. Es importante considerar otras alternativas al uso de *T. radiata*, como es el caso de especies de Chrysopidae, ya que su producción es rápida y de bajo costo. No obstante, los depredadores son generalistas que van a consumir todo tipo de ninfas, será un jugador más que competirá con las poblaciones de *Tamarixia* y puede disminuir las poblaciones de ésta en el campo, por lo que *Tamarixia* es el mejor enfoque para los programas de control biológico dada a su especificidad sobre su huésped.
7. Con el propósito de tener certidumbre en la detección del HLB es necesario armonizar las metodologías de diagnóstico, además de buscar apoyo de corroboración con



- Laboratorios de México, Belice, Costa Rica, Nicaragua y E.U.A., entre otros. Se debe impulsar el establecimiento de 2 o 3 laboratorios por país.
8. Hay tres componentes básicos: (1) investigación; (2) concientización de los entes públicos, productores y público en general; y (3) manejo del HLB y su vector. Los tres elementos deben trabajar juntos en una red de información liderada por un comité organizador.
  9. Como parte de la estrategia de manejo es importante evitar uso abusivo de los agroquímicos para no causar resistencia de los psílidos a los diferentes grupos químicos existentes: piretroides, organofosforados y nicotinoides, e incluir el uso de extractos botánicos, hongos entomopatógenos y aceites agrícolas.
  10. Divulgación de todo lo que ya se conoce. Es importante no olvidar el alcance del control biológico. Es necesario integrar esta estrategia como herramienta complementaria al:
    - a. Diagnóstico oportuno y eliminación de plantas.
    - b. Uso de plantas certificadas.
    - c. Control del vector.

## Recomendaciones de los grupos

### SOBRE EL DIAGNÓSTICO DEL HLB Y SU MANEJO

1. Constituir un comité técnico-político con conocimiento de la región de manera que cada una de las citriculturas esté representada e involucrada; este Comité deberá generar una red de comunicación que permita compartir la información a través de un sitio web donde FAO se encargue del mantenimiento y actualización. Asimismo será necesario un plan de acción regional para el manejo del vector del HLB, donde se consideren dos grandes componentes: (1) diagnóstico oportuno de la enfermedad; y (2) eliminación de plantas infectadas. Es imprescindible implementar una red de laboratorios regionales, así como una política legal para la eliminación de plantas infectadas y una política armonizada de certificación sanitaria. Se deben plantear de manera diferenciada las estrategias para productores de pequeña y grande escala, y considerar lo que es traspatio.
2. Crear un Banco de Germoplasma libre del HLB y otras plagas y enfermedades para que a su vez sea un abastecedor de diferentes patrones y yemas para Bancos de Germoplasma de cada país de Centroamérica; FAO y OIRSA deberán colaborar con el establecimiento del mismo, así como los Gobiernos de cada país.
3. Divulgar y promover la producción bajo viveros con condiciones controladas y establecer leyes que apoyen estos temas; asimismo divulgar información con respecto a la enfermedad para concientizar sobre la problemática del HLB y con ello minimizar riesgos de diseminación.

### SOBRE LA TECNOLOGÍA DE CONTROL BIOLÓGICO DE *Diaphorina citri*

4. Definir proyectos orientados al control del psílido asiático de los cítricos: (1) producción de organismos que ya tengan tecnología desarrollada en nivel avanzado,



- como es el caso de *Tamarixia*, especies de Chrysopidae (depredadores generalistas con impacto en otros cultivos) y hongos entomopatógenos; asimismo que contengan el componente de investigación correspondiente para respaldar y mejorar los sistemas de producción; (2) manejo integrado de plagas, donde se pueda integrar al control químico el aceite de Neem y otros insecticidas de bajo impacto en las poblaciones de organismos benéficos en campo; y (3) reforzar concientización.
5. Contar con un manual de procedimientos sobre el uso de *Tamarixia radiata*, que incluya aspectos para la producción masiva y las condiciones óptimas para su reproducción, buscando sean adaptables a los productores, y que incluya esquemas de liberación y densidad de población a liberar por hectárea.
  6. En Panamá aún no se tiene detectado al HLB, por lo que todas las medidas están enfocadas al control del psílido asiático de los cítricos. De establecerse en este país la cría de *Diaphorina citri* para la producción de *Tamarixia radiata*, deberá garantizarse que ésta esté completamente pura, sin ningún contaminante como el HLB; de otra manera se puede estar generando un foco de infección.

## **SOBRE LA COMUNICACIÓN**

7. Generar red de comunicación entre los especialistas de los países de Centroamérica con el fin de dar seguimiento a los acuerdos tomados en este Taller y buscar alianzas entre el sector público, privado, FAO y OIRSA, para dar seguimiento a las estrategias de manejo del HLB y *D. citri* planteadas, así como a la divulgación de información generada.

## **SOBRE PROYECTOS PARA FORTALECIMIENTO DE LAS ACCIONES CONTRA HLB Y *D. citri* Y DESTINO DE LOS FONDOS**

8. Cada país deberá elaborar y presentar proyectos a un Comité Técnico para Evaluación y Priorización, analizando la viabilidad de cada proyecto de manera tal que los recursos económicos disponibles puedan ser destinados en tres líneas de asignación de fondos:
  1. Capacitación del personal que vaya llevar a cabo el proyecto; México, TicoFruT, Florida están dispuestos a capacitar;
  2. Crear y mejorar infraestructura; y
  3. Fase de ejecución (compras de insumos, equipo, materiales, salarios de personal, entre otros). Es imprescindible llevar a cabo el seguimiento de las acciones para verificar el uso de los fondos adecuadamente y dar seguimiento semestral de forma física o con el uso de tecnologías, donde se hagan evaluaciones continuas de los proyectos con los resultados y avances de cada uno.



# Taller Subregional de Control Biológico de *Diaphorina citri*, vector del HLB

