



10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016  
02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo ISBN  
978-85-7029-135-6

**CRIAÇÃO EM LABORATÓRIO DA PRAGA *Diaphorina citri* EM MUDAS HOSPEDEIRAS  
DE *Murraya paniculata***

Nathalie Gulfier **Augusto**<sup>1</sup>; Camila Nascimento de **Souza**<sup>2</sup>; Luiz Alexandre Nogueira de **Sá**<sup>3</sup>

**Nº 16410**

**RESUMO** – O psílídeo dos citros *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) é um inseto exótico, proveniente do continente asiático. É o principal vetor da doença Huanglongbing (HLB), causada pela bactéria do gênero *Candidatus Liberibacter* spp. Este psílídeo tem sido responsável por grandes perdas da produção de citros. A murta de cheiro *Murraya paniculata* é uma planta arbustiva ornamental utilizada como hospedeira alternativo de *D. citri* no Brasil. O objetivo desse trabalho foi a otimização da criação da praga *D. citri* para futura produção do parasitóide exótico *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae) a ser introduzido no país pelo Laboratório de Quarentena “Costa Lima”. O controle biológico clássico com a utilização deste parasitóide *D. aligarhensis*, virá reforçar o controle biológico já existente nos pomares cítricos pelo parasitóide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) já em liberações atualmente.

**Palavras-chaves:** Praga exótica, quarentena, parasitoide exótico, inseto vetor

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, Campinas- SP; [nathalie.gulfier@hotmail.com](mailto:nathalie.gulfier@hotmail.com)

2 Colaboradora: Graduada em Ciências Biológicas, Universidade Paulista, Campinas-SP; [camila.n.s.27@gmail.com](mailto:camila.n.s.27@gmail.com)

3 Orientador: Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; [luiz.sa@embrapa.br](mailto:luiz.sa@embrapa.br).



**ABSTRACT-** *The psyllid of citrus Diaphorina citri Kuwayama ( Hemiptera : Liviidae) is an exotic insect, from the Asian continent. It is the main vector of Huanglongbing disease (HLB), caused by bacteria of the genus Candidatus Liberibacter spp. This psyllid has been responsible for major losses in citrus production. The Murraya paniculata is an ornamental shrubby plant used as D. citri host in Brazil. The objective of this paper was the optimization of the rearing of the pest D. citri to be utilize in the future in the rearing of the exotic parasitoid Diaphorencyrtus aligarhensis (Hymenoptera: Encyrtidae) to be introduce in the country throught “Costa Lima” Quarantine Facilities. The classical biological control using this parasitoid D. alegahrensis it will be to reinforce the biological control existence actually in the citrus crop by the liberations of the parasitoid Tamarixia radiata (Hymenoptera: Eulophidae).*

**Keywords :** Exotic pest, quarantine, exotic parasitoid, vector insect

## 1 INTRODUÇÃO

A área plantada de laranjas no Brasil, conforme safra de maio de 2016, foi de 758.797 hectares, tendo como produção de frutas cerca de 15.756.349 toneladas (IBGE, 2016).

A produção de citros é comercializada tanto na forma in natura como em suco concentrado, nos mercados interno e externo, sendo o Brasil o maior exportador de suco concentrado do mundo. A área colhida de laranja na safra 2016 foi de 681.414 toneladas, dados de maio de 2016. O estado de São Paulo detém o primeiro lugar representando 77,4% da produção brasileira (IBGE, 2016).

A cultura dos citros é afetada por inúmeras pragas, algumas causam danos diretos e outras são consideradas problemas por serem vetores de patógenos (PARRA et al. 2003).

O psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) foi por muitos anos considerado uma praga secundária de citros no Brasil (GALLO et al. 2002), até o registro do HLB em 2004, quando passou a ser a mais importante praga da cultura, como tem sido em todas as regiões citrícolas. Trata-se de um inseto cosmopolita, originário da Ásia e que, atualmente encontra-se distribuído em vários países do sul da Ásia, regiões do Oriente médio, região sul dos Estados Unidos, América Central, Caribe e América do Sul (HALBERT& MANJUNATH, 2004; BOVÉ, 2006).

Esse inseto assume grande importância devido à alta capacidade de transmitir a bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. agente causal da doença huanglongbing (HLB), por ser vetor da



**10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016**  
**02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo ISBN**  
**978-85-7029-135-6**

bactéria associada a sintomas do HLB, conhecida anteriormente por greening (HALBERT & MANJUNATH, 2004, BOVÉ, 2006).

O HLB é considerado uma das mais severas e destrutivas doenças relacionadas aos citros, pois seu efeito é prejudicial para o desenvolvimento da planta e para a produção de frutos. A bactéria *Candidatus Liberibacter* spp. agente causal da doença HLB, coloniza os vasos condutores da seiva elaborada da planta, obstruindo-os. A partir daí é desencadeado todo o processo de desenvolvimento da doença. Presença de folhas mosqueadas é o sintoma típico do HLB. A bactéria provoca amarelamento, desfolha, seca e morte dos ramos. Os frutos apresentam maturação irregular, redução do tamanho, deformação e queda intensa (BOVÉ, 2006).

A bactéria se multiplica em várias variedades de citros e sua transmissão é feita pelo inseto vetor *D. citri*. Além dos citros, a bactéria causadora da doença HLB pode hospedar-se em plantas rutáceas usadas como plantas ornamentais, com destaque, a *Murraya* spp., uma planta hospedeira preferencial de *D. citri*. (AUBERT, 1987).

As formas mais conhecidas de introdução do HLB e início das epidemias são: I- a transmissão local e regional por *D. citri*; II- o transporte de psíldeo infectivo em materiais vegetais, incluindo citros e outras espécies hospedeiras do psíldeo; III- o transporte de plantas de citros infectadas; IV- o transporte de plantas próximas aos citros infectadas e usadas como ornamentais.

A restrição de movimento natural do psíldeo vetor, principalmente a longas distâncias, é uma tarefa difícil, medidas quarentenárias que visem redução da movimentação de plantas hospedeiras da bactéria e/ou do vetor, de áreas infestadas para áreas livres da doença, devem ser adotadas e reforçadas.

O período de aquisição da bactéria pelo psíldeo *D. citri* é de 15 a 30 minutos de sucção, permanecendo de forma latente por 1 a 21 dias. O quarto e quinto estágios ninfais podem adquirir a bactéria, mas só o adulto pode transmiti-la ao migrar de ramo ou planta. Quando o psíldeo suga por uma hora ou mais a eficiência de transmissão é de cem por cento. E uma vez infectados, podem transmitir a bactéria a vida toda (XU et al., 1988).

Algumas medidas para eliminação do controle da doença é o uso intensivo de defensivos agrícola, o que envolve pulverizações em grande escala, e elevando o risco de acúmulo de agrotóxicos permitido. A eliminação de plantas doentes também tem sido usada para o controle do HLB (BELASQUE Jr., 2010).



Além dessas medidas de controle da doença, utiliza-se também o método de controle biológico da praga, técnica que se utiliza dos inimigos naturais de uma determinada espécie. No caso da *Diaphorina citri* utiliza-se os parasitoides *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae).

A *T. radiata* é ectoparasitóide (que se desenvolve externamente), onde a fêmea deposita seus ovos geralmente no tórax. A larva recém-nascida se alimenta da ninfa e depois se desloca para debaixo da ninfa onde se tem maior conteúdo de alimento. Com a ninfa mumificada o adulto emerge fazendo um orifício na região torácica, que demora cerca de 12 dias para o desenvolvimento do parasitoide.

O *D. aligarhensis* é um parasitóide onde a fêmea adulta oviposita um único ovo no hospedeiro, geralmente deposita em seu abdômen. As fêmeas têm preferência por ninfas de 2º a 4º instar. As ninfas do hospedeiro *D. citri* continuam a se alimentar e desenvolver após o evento do parasitismo até que eventualmente são mortas antes de antigirem a fase adulta (Figura 1) (ROHRIG, 2011).



**Figura 1.** Fêmea de *Diaphorencyrtus aligarhensis* parasitando ninfa de *Diaphorina citri*. Fonte: Eric Rohrig, University of Florida

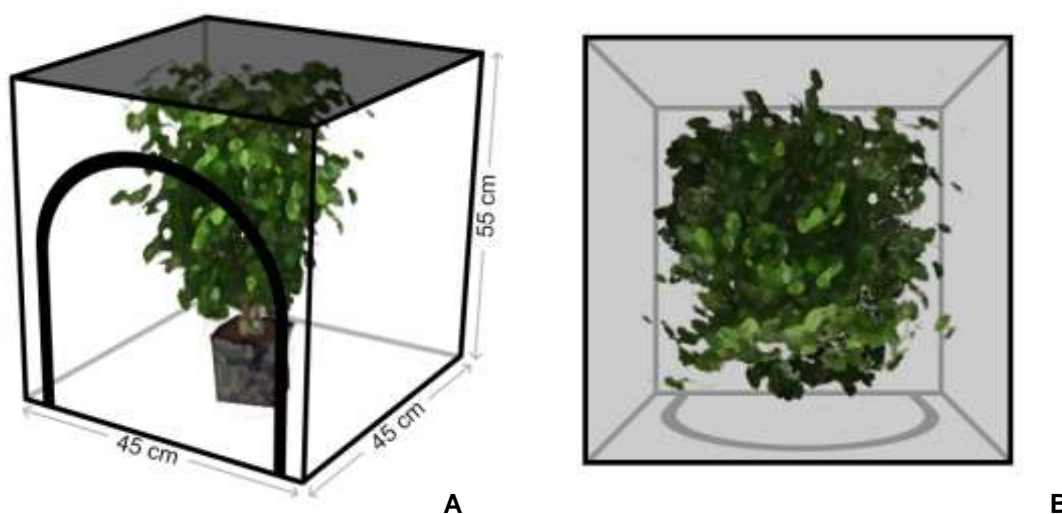
O ciclo de vida de ovo ao adulto do parasitoide necessita de 16 a 18 dias a 25°C, seu desenvolvimento ocorre dentro da ninfa de *D. citri*, portanto o *D. aligarhensis* é endoparasitoide. Ninfas parasitadas morrem e começam a endurecer em uma múmia na cor marrom. O parasitoide após seu desenvolvimento emerge a partir de um orifício na região do abdômen (ROHRIG, 2011).

O objetivo desse trabalho foi a otimização da criação da praga *Diaphorina citri* para futura produção do parasitóide exótico *Diaphorencyrtus aligarhensis* a ser introduzido no país.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A criação de *Diaphorina citri* foi obtida a partir de psíldeos provenientes da criação mantida no Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”(ESALQ/USP) em Piracicaba-SP. Os insetos foram trazidos para o Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF), na área quarentenada do Laboratório de Quarentena “Costa Lima” (QCL) tendo início em novembro de 2014.

Os insetos adultos foram colocados em gaiolas de criação para insetos (45 cm de comprimento, 45 cm de largura e 55 cm de altura), forradas em tela anti-afídeos da marca Lab Creation® (Figura 2). No interior de cada gaiola foi colocada muda do hospedeiro alternativo murta de cheiro (*Murraya paniculata*) com brotações novas. As gaiolas foram mantidas em salas de criação com temperatura de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa (UR) de  $70 \pm 10\%$ , e fotofase de 14:10 horas L:E (luz:escuro) (PARRA et al., 2010).



**Figura 2.** Gaiola de criação de insetos com muda de murta (*Murraya paniculata*). Ilustrações de: Camila Souza: a) vista frontal e b) vista superior/por cima

Para a manutenção da criação de *D. citri*, semanalmente foi realizada a poda de aproximadamente 20 mudas murta de cheiro agrupadas na casa de vegetação na parte externa do prédio, quando após 15 dias de idade começaram aparecer novas brotações. Com o surgimento dos brotos as mudas foram levadas para sala de criação e oferecidas aos adultos dos psíldeos. Em cada gaiola de criação foram disponibilizadas quatro mudas de murta (Figura 3).



**Figura 3.** A) Casa de vegetação localizada na parte externa do prédio do Laboratório de Entomologia e Fitopatologia (LEF) e do Laboratório de Quarentena “Costa Lima” (QCL). B) mudas de murta de cheiro para realização da poda. Foto: Camila Souza

Os adultos liberados nas gaiolas com brotações jovens foram mantidos por um período de sete dias para que as fêmeas possam infestar as plantas com sua oviposição. Após a infestação, os insetos foram novamente coletados e contados, e então transferidos para novas gaiolas com plantas, para ocorrer novamente o ciclo de ovoposição.

Depois da retirada dos adultos esperou-se 15 dias para coleta dos adultos *D. citri* recém emergidos, que também foram transferidos para novas gaiolas. Durante o período de 15 dias, esses ovos ovipositados pelos adultos eclodiram, e as ninfas passaram a se alimentar das brotações. As ninfas possuem cinco instares até chegar na fase adulta (Figura 4).



**Figura 4.** Ciclo de vida de *Diaphorina citri* ovos, ninfas e adultos respectivamente. Foto: Camila Souza



**10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016**  
**02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo ISBN**  
**978-85-7029-135-6**

Após a coleta dos novos adultos, as plantas utilizadas foram lavadas com uma solução de detergente a 10% em um litro de água destilada. A solução foi aplicada nas plantas deixando agir por um período de 10 a 15 minutos. Em seguida, a solução foi retirada das plantas através de jatos de água. Utilizou-se dessa solução para evitar o aparecimento de pulgões e outros insetos, e também, eliminar possíveis ninfas que tenham ficado nas plantas, e dessa forma, essas plantas poderão ser novamente utilizadas após o período de quinze dias da poda.

Em setembro de 2015, iniciou-se a criação do psíldeo dos citros na área quarentenada (QCL). Foram transferidos 465 adultos da sala de criação da área não quarentemada (LEF), e colocados em gaiolas com quatro mudas de murta de cheiro, contendo dois tubetes de limão cravo (*Citrus limonia*) (Figura 5).



**Figura 5.** Criação em gaiola de *Diaphorina citri* no Laboratório de Quarentena “Costa Lima”. Foto: Camila Souza

Em 28 de setembro de 2015, 400 adultos do parasitoide *Diaphorencyrtus aligarhensis* importados chegaram ao QCL no interior de oito tubos de vidro, com procedência de Riverside, Califórnia, EUA. Esses adultos foram distribuídos no interior de cinco gaiolas de criação contendo formas jovens de *D. citri* sobre mudas de murta; e também com dois tubetes de limão cravo no interior das gaiolas, para auxiliarem no comportamento deste inseto/odor das plantas cítricas (Figura 5).



Os adultos de *D. aligarhensis* foram mantidos em sala de criação com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  com umidade de 65% a 70%; e fotofase de 14:10 horas L:E. A cada sete dias foram colocados novas mudas de murta com ninfas jovens nas gaiolas, onde foram mantidos os adultos dos parasitoides. Também foram levadas para quarentena novas mudas de murtas para serem oferecidas às fêmeas de *D. citri* para que estas pudessem ovipositar. Aproximadamente após sete dias da infestação de *D. citri* os ovos começaram a eclodir surgindo novas ninfas. A população do parasitoide importado *D. alegahrensis*, oferecida para o parasitismo de *D. citri* não sobreviveu, ou seja, não houve a multiplicação/parasitismo nas gaiolas de criação da praga *D. citri* em laboratório. Está prevista nova importação de adultos de *D. aligarhensis* da Califórnia, EUA para junho de 2016.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com observações diárias e com novas gaiolas infestadas feitas a cada semana, os resultados obtidos através da contagem de novos adultos foram pré-estabelecidos (Figura 6).

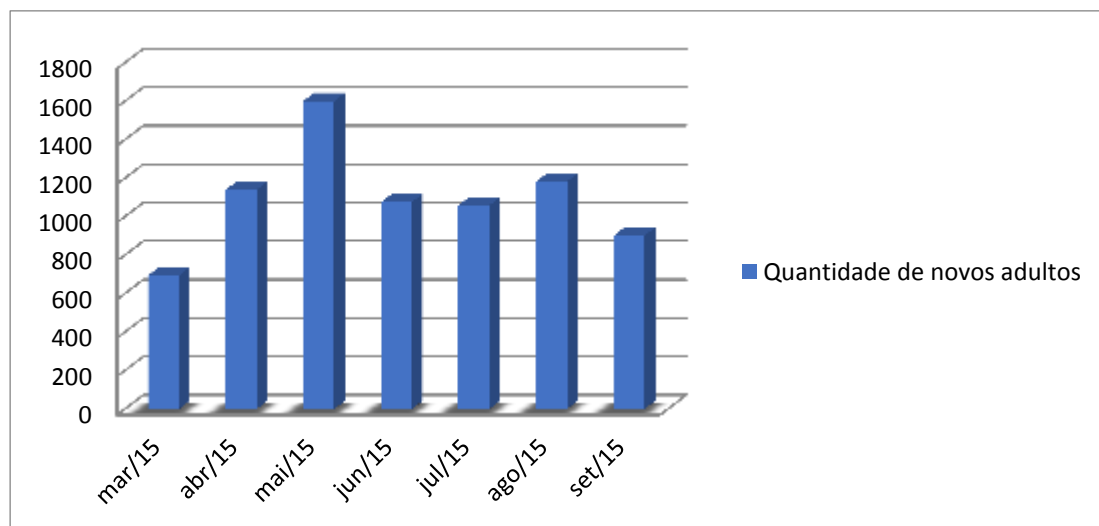


Figura 6. Quantidade de novos indivíduos adultos a cada mês no ano de 2015

Foram coletados 600 adultos de *D. citri*, divididos em quatro gaiolas. Cada gaiola tinha quatro mudas de murta onde foi colocado 150 adultos. Após sete dias os adultos foram retirados de cada gaiola, e foram verificados quantos adultos morreram, num total de 102 adultos mortos. Os novos adultos foram coletados depois de 15 dias num total de 825 adultos (Tabela 1).





**Tabela 1.** Quatro gaiolas contendo cada uma no seu interior 150 adultos de *Diaphorina citri* após quinze dias da contagem dos novos adultos

GAIOLA	ADULTOS INFESTADOS	ADULTOS RETIRADOS (após 7 dias)	Adultos mortos	NOVOS ADULTOS (após 15 dias)
G1	150	115	35	189
G2	150	121	29	216
G3	150	130	20	227
G4	150	132	18	193
TOTAL	600	498	102	825

Com a criação de *D. citri* na área QCL foi possível observar ninfas parasitadas por *D. aligarhensis* na região do abdômen, e desenvolvimento do parasitoide emergindo a partir de um orifício nesta região (Figura 7C).



**Figura 7.** A) ninfa de *Diaphorina citri* não parasitada. B) ninfa de *D. citri* parasitada C) ninfa de *D. citri* com orifício de saída do parasitoide *Diaphorencyrtus aligarhensis*. Foto: Camila Souza

O mês de maior produção foi em maio de 2015 com um total de 1.601 insetos, e o mês com menor produção foi em março de 2015 com 695 insetos (Figura 6). O resultado da produção de novos adultos de *D. citri* durante os meses de março a setembro de 2015 foi de 7.653 sob condições controladas de laboratório com temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  com umidade de 65% a 70%; e fotofase de 14:10 horas L:E (Figura 6).



**10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016**  
**02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo ISBN**  
**978-85-7029-135-6**

A média de adultos de *D.citri* produzidos nas quatro gaiolas foi de 206,25 adultos/por gaiola. Na gaiola 3 (G3) com 150 adultos foram obtidos um total de 227 novos adultos, sendo o maior resultado obtido. Já na gaiola 1 (G1) com 150 adultos, teve um total de 189 novos adultos, sendo o menor resultado obtido entre as quatro gaiolas (Tabela 1).

#### **4 CONCLUSÃO**

A criação do psilídeo dos citros *Diaphorina citri* nas condições do laboratório de quarentena “Costa Lima” da Embrapa Meio Ambiente foi viável observando-se aumento razoável na população desta praga, e tendo sido obtido seu estabelecimento populacional em plantas de murta. Com o controle ideal da temperatura e da umidade, e com a utilização de plantas de murtas podadas, e selecionadas adequadamente, foi possível através de novas infestações semanais, com cerca de aproximadamente 150 indivíduos de *D. citri* por gaiola; e após 14 dias desde a postura dos ovos até sua eclosão, a obtenção com êxito desta metodologia de criação do inseto adotada.

#### **5 AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pela bolsa de estudo concedida (PIBIC), ao Laboratório de Quarentena “Costa Lima” (QCL), da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariúna-SP, ao Roberto Aparecido Alves Pereira, técnico do QCL por todo auxílio, e a ex-bolsista PIBIC/CNPq Camila Nascimento de Souza (Embrapa Meio Ambiente).

#### **6 REFERÊNCIAS**

AUBERT, B. Trioza erytraeae Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, Paris, v.42, n.3, p.149-162, 1987.

BELASQUE Jr., J.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; BASSANEZI, R.B.; AYRES, A.J.; BOVÉ, J.M. Controle do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v.31, n.1, p.53-64, 2010.



**10º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2016**  
**02 a 04 de agosto de 2016 – Campinas, São Paulo ISBN**  
**978-85-7029-135-6**

BOVÉ, J. M. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology**, Milan, v. 88, n. 1, p. 7-37, 2006.

HALBERT, S. E.; NÚÑEZ, C. A. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the caribbean basin. **Florida Entomologist**, Winter Haven, v. 87, p.401-402, 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agrícola, culturas temporárias e permanentes. Maio/2016 (Sistema IBGE de Recuperação Automática-SIDRA). Disponível <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=2&z=t&o=26&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1>

PARRA, J. R. P.; LOPES, J. R. S.; TORRES, M. L. G. NAVA, D. E.; PAIVA, P. E. B. Bioecologia do vetro *Diaphorina citri* e transmissão de bactérias associadas ao huanglongbing. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 31, n.1, p. 37-51, 2010.

QURESHI J. A.; PHILIP A. *Tamarixia radiate* Waterson (Hymenoptera: Eulophidae, an ectoparasitoid of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae. Stansly University of Florida/IFAS Department of Entomology and Nematology Southwest Florida Research and Education Center, Immokalee, FL 34142.

ROHRIG E. An Asian citrus psyllid parasitoid scientific name: *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alamand Agarwal) (Insecta: Hymenoptera; Encyrtidae). 2010 Disponível em: [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/beneficial/wasps/diaphorencyrtus\\_aligarhensis.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/beneficial/wasps/diaphorencyrtus_aligarhensis.htm); Acesso em: 26/08/2014.

XU, C.F.; XIA, Y. H.; LI, K. B.; KE, C. Further study of the transmission of citrus huanglongbing by a psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama. In: CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL ORGANIZATION OF CITRUS VIROLOGISTS, 10., 1988.