



**CRIAÇÃO DA PRAGA CÍTRICA *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIDAE) EM LABORATÓRIO
PARA CONTROLE BIOLÓGICO DA DOENÇA HUANGLONGBING (HLB)**

Camila Nascimento de **Souza**¹; Luiz Alexandre Nogueira de **Sá**²

Nº 15402

RESUMO - O Brasil é o segundo produtor mundial de citros, sendo o principal produtor de laranjas, contribuindo com cerca de 30% da produção de laranja doce, 50% da produção de suco e 85% do mercado mundial dessa commodity. A participação nessa cadeia produtiva movimenta US\$ 14,6 bilhões ao ano, e gera aproximadamente 350 mil empregos no país. A doença Huanglongbing (HLB ou citrus greening) causada pela bactéria de floema, *Candidatus Liberibacter* spp., é a maior ameaça aos pomares do país, por afetar todas as variedades e pelo alto potencial para afetar os pomares, e torna-los inviáveis economicamente. As medidas de controle foram tomadas, entre sete e dez anos após o aparecimento da primeira planta sintomática, em pomares em produção. A criação em laboratório da praga, o psíldeo-dos-citros *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) é de fundamental importância para todos os estudos bioecológicos desta praga na citricultura nacional. O objetivo deste trabalho foi desenvolver técnica de criação em laboratório para *D. citri* para o posterior controle biológico desta praga cítrica, com a utilização de bioagentes de controle, visando diminuir o uso intensivo de agrotóxicos nos pomares de cítricos nacionais.

Palavras-chaves: metodologia de criação; praga; controle biológico

1 Camila Nascimento de Souza, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Ciências Biológicas, UNIP, Campinas-SP; camila.n.s.27@gmail.com

2 Orientador: Luiz Alexandre Nogueira de Sá Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; luiz.sa@embrapa.br.



ABSTRACT - Brazil is the second largest producer of citrus being the main producer oranges, contributing with 30% of sweet orange production, 50% of juice production and 85% world market of this commodity.

Participation in this production chain turnover of US \$ 14.6 billion a year and generates about 350,000 jobs in the country. The Huanglongbing disease (HLB or greening citrus) caused by the bacteria of phloem, *Candidatus Liberibacter* spp., is the biggest threat to the country's orchards, affecting all varieties and the high potential to affect the orchards, and makes the economically unviable. Control measures were taken between seven and ten years after the appearance of the first symptom plant in orchards in production. The rearing in the laboratory of the pest, the psyllid-of-citrus *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) is required for all bio-ecological studies of this pest in the national citrus industry. The objective of this study was to develop breeding technique in the laboratory to *D. citri* for subsequent biological control of this citrus pest, with the use of bioagents control in order to reduce the intensive use of pesticides in the national citrus groves.

Key-words: rearing methodology; pest; biological control

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo produtor mundial de citros, sendo o principal produtor de laranjas, contribuindo com cerca de 30% da produção de laranja doce, 50% da produção de suco e 85% do mercado mundial dessa commodities. A participação nessa cadeia produtiva movimentava US\$ 14,6 bilhões ao ano, e gera aproximadamente 350 mil empregos no país (JÚNIOR, 2010). As laranjeiras *Citrus sinensis* são os citros mais importantes economicamente para o país, sendo o estado de São Paulo o maior produtor de laranjas (LOPES et. al.; 2011).

O país tem um ótimo desempenho nas exportações, onde os citros representam uma boa fonte econômica para o Brasil, contribuindo para o crescimento socioeconômico (LOPES et. al.; 2011). No entanto, o agronegócio citrícola brasileiro tem sofrido grandes impactos com a descoberta de novas pragas, como o psílideo-dos-citros *Diaphorina citri* Kuwayama (Waterson) (Hemiptera: Liviidae) vetora da doença ex-greening, Huanglongbing (HLB). Esta é a principal doença atual que afeta a citricultura no estado de São Paulo, em plantas da família *Rutaceae*, principalmente em murta e citros.



9º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2015 10 a 12 de agosto de 2015 – Campinas, São Paulo

O inseto causador dessa doença é originário do continente asiático, e foi identificado durante a década de 40 no Brasil e descrito como uma praga secundária. Atualmente está presente nas principais regiões produtoras de citros do país (FUNDECITRUS). A *D. citri* é um inseto sugador que mede aproximadamente 3 a 4 mm de comprimento na fase adulta, e possui um corpo amarronzado (GRAVENA et. al.; 2010).

A *D. citri* tem preferência por ramos novos onde fazem sua oviposição, os ovos tem coloração amarela e a sua forma jovem (ninfas) se desenvolvem sincronizadas com o crescimento dos ramos. Já os adultos estão associados a ramos crescidos, onde podem de se alimentar de folhas maduras. (PARRA et. al. 2010). As ninfas possuem cinco instares sendo que no primeiro instar medem cerca de 0,3 mm de comprimento por 0,17 mm de largura e apresentam coloração amarelo claro, e posteriormente vai se tornando mais escuras. No quinto e último instar podem chegar a 1,6 x 1,02 mm (PINTO, 2012).

A primeira ocorrência da doença HLB no Brasil aconteceu na região de Araraquara no estado de São Paulo em 2004, registros mostram que as bactérias que causaram prejuízos aos pomares de citros foram *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus* (BOVÉ, 2006).

O psílídeo-dos-citros por ser o vetor do HLB adquire a bactéria ao se alimentar de brotações de plantas infectadas e transmite a doença inoculando em plantas sadias quando se alimenta (GRAVENA et. al.; 2010). Por meio de sucessivas sugadas a *D. citri* causa danos diretos nas plantas tais como seca de brotações, deformações em folhas jovens e presença de fumagina. A fumagina é o excesso de “*honeydew*” (substância açucarada), levando a secagem das estruturas vegetais (PARRA et. al., 2010). Ainda não se tem métodos curativos para controlar o HLB (BOVÉ, 2006), então o controle acontece de forma preventiva com a eliminação das fontes de inóculos, produção de mudas sadias e controle populacional do inseto vetor (JÚNIOR, 2010).

Os bioagentes utilizados no controle do psílídeo são a *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) (ectoparasitoide) e *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam and Argarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae) (endoparasitoide) conforme Rohrig (2011). O parasitoide *T. radiata* foi encontrado na fazenda Areão da ESALq- USP, Campus de Piracicaba –SP em pomares cítricos infestados com *D. citri*, e já está sendo multiplicado pela ESALq e pelo FUNDECITRUS – Araraquara –SP. Este é um programa de controle biológico do psílídeo dos citros em áreas urbanas e em pomares abandonados no estado de São Paulo, mantido pela criação da praga no hospedeiro alternativo murta em gaiolas de criação testadas neste trabalho.



O objetivo deste trabalho foi desenvolver técnica de criação em laboratório para *D. citri* para o posterior controle biológico desta praga cítrica, com a utilização de bioagentes de controle, visando diminuir o uso intensivo de agrotóxicos nos pomares de cítricos nacionais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os adultos de *Diaphorina citri* foram obtidos a partir de uma criação estabelecida no Laboratório de Biologia de Insetos da ESALq-USP em Piracicaba-SP. Foram introduzidos 300 adultos de *D. citri*, no Laboratório de Quarentena “Costa Lima”, da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna-SP em 27 de novembro de 2014. Os adultos foram colocados no interior de gaiolas de criação de insetos (45 cm de comprimento, 45 cm de largura e 55 cm de altura), confeccionadas em tela antiáfídica, da marca Lab Creation ® (Figura 1).



Figura 1. Gaiolas de criação de *Diaphorina citri*, mantidas no Laboratório de Quarentena “Costa Lima”, da Embrapa Meio Ambiente, em Jaguariúna-SP. Foto: Camila N. Souza, 2015

Esses 300 adultos foram divididos em duas gaiolas de criação, sendo introduzidos 150 indivíduos de *D. citri* por gaiola. Cada gaiola tinha no seu interior quatro mudas do hospedeiro alternativo murta (*Murraya paniculata*) com brotações novas.

As gaiolas foram mantidas em sala de criação à temperatura de 27 a 30°C, umidade relativa de 50 a 60% e fotofase de 12 horas. Os adultos de *D. citri* colocados nas gaiolas são retirados a cada sete dias (período de oviposição), e colocados em outras gaiolas com mudas novas de murta. Nestas gaiolas ocorreu o desenvolvimento do ciclo de vida deste inseto praga (ovos, ninfas e adultos) sobre brotações das plantas de murta (Figura 2).



Figura 2. Ciclo de vida de *Diaphorina citri*, ovos, ninfas e adulto, respectivamente. Foto: Mateus Manara Picoli, 2013. Fonte: http://www.esalq.usp.br/cprural/boaspraticas.php?boa_id=92

Para a coleta dos adultos utilizou-se de um aspirador entomológico manual (FIGURA 3). Após a retirada dos adultos da gaiola, espera-se 15 dias para retirada dos novos adultos. Os novos adultos também foram colocados em outras gaiolas com mudas e brotações novas para começar o ciclo novamente.

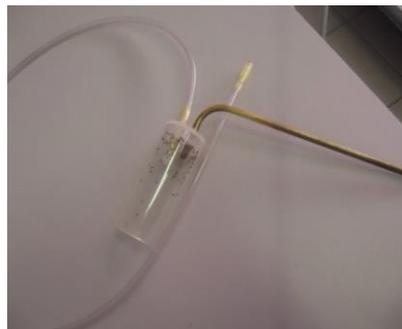


Figura 3. Aspirador entomológico manual, usado na coleta de adultos de *D. citri*. Foto: Camila N. Souza, 2015

Os adultos de *D. citri* tem preferência para fazer sua oviposição em brotos novos, então a cada 15 dias realizaram-se podas dos ramos das 20 mudas de murtas, para serem utilizadas na criação após a retirada dos adultos. As mudas com brotações novas foram mantidas em telado de “nylon” à temperatura ambiente, e depois foram transferidas para sala de criação climatizada em condições de laboratório (Figura 4).



Figura 4. a) Podas das mudas de murtas, realizadas a cada 15 dias para obtenção de brotos novos. b) Mudas de murta, mantidas em telado de “nylon” com temperatura ambiente Foto: Camila N. Souza, 2015

Após a utilização dessas mudas, foi feita aplicação pulverizada de solução aquosa com detergente a 10%, e deixou-se agir por 15 minutos; e em seguida lavou-se a muda com água, esse procedimento serve para esterilizar a planta. Depois de 15 dias esta muda será podada para o nascimento de novas brotações e será novamente reutilizada na criação do inseto (Figura 5).



Figura 5. Aplicação da solução de detergente em mudas utilizadas na criação. Foto: Camila N. Souza, 2015

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à produção do inseto-praga *D.citri* obtidos da criação em gaiolas, sob condições controladas de laboratório com média mensal 747 adultos durante o período de março a junho 2015 (Figura 6). Resultados semelhantes na criação de *D. citri* foram obtidos por Diniz (2013).

Esta quantidade de adultos de *D. citri* obtida por gaiolas de criação foi possível para a manutenção e o estabelecimento desta praga nessas condições controladas de laboratório a partir de março de 2015. Também foi verificado que o ciclo reprodutivo de *D. citri* desde a postura até o adulto foi de aproximadamente 15 dias nessas condições de temperatura, umidade e fotofase no



interior dessas gaiolas de criação Lab Creation®.

A criação desta praga *D. citri* para o estabelecimento de uma população em gaiolas de criação em condições controladas (temperatura de 27 a 30°C, umidade relativa de 50 a 60% e fotofase de 12 horas) é de muita importância para a posterior criação de parasitoides utilizados no controle biológico desta praga, dentro do Manejo Integrado de Pragas de Citros (MIP-Citros). Também a criação e os estudos biológicos de *D.citri* foram estudados por Nava et al. (2007 e 2008).

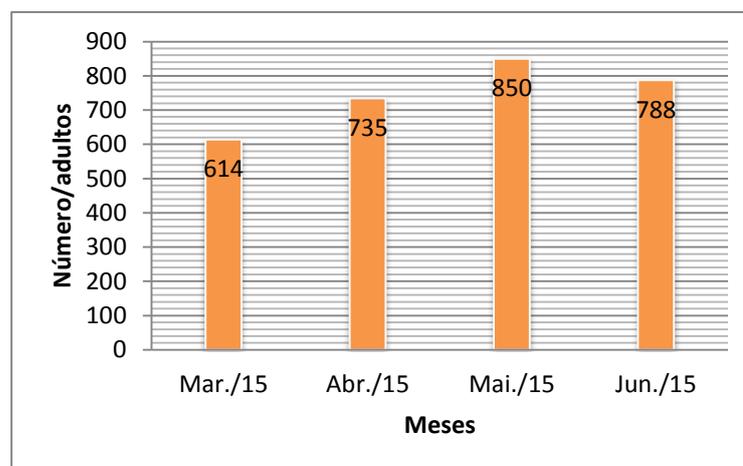


Figura 6. Número de adultos de *Diaphorina citri* produzidos em gaiolas de criação em condições controladas de laboratório no período de março a junho de 2015

4 CONCLUSÕES

A metodologia de criação de *D. citri* em gaiolas em condições de laboratório apresentando uma média de produção ao redor de 747 indivíduos por período de 120 dias. Os dados são referentes aos meses de março á junho.

A utilização dessas gaiolas de criação de insetos possibilita a manutenção e estabelecimento de população de *D. citri* em condições controladas sobre o hospedeiro alternativo, *Murraya paniculata*.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de estudo concedida (PIBIC), ao Laboratorio de Quarentena “Costa Lima” (LQC), da Embrapa Meio Ambiente em Jaguariuna-SP e ao Laboratório de Biologia de Insetos da ESALq-USP, Campus de Piracicaba-SP. E a orientação do pesquisador Luiz Alexandre Nogueira de Sá (LQC), a pesquisadora Jaci Mendes Vieira (ESALq – USP) e a bolsista Valdânia



Conceição de Souza (Embrapa Meio Ambiente).

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOVÉ, J. M. **Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus.** Journal of plant pathology. 2006; 88 (1): 7 – 37

DINIZ, A.J.F. **Otimização da criação de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), visando a produção em larga escala do parasitoide e avaliação do seu estabelecimento em campo.** 2013. 128p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

FUNDECITRUS – Fundo de Defesa da Citricultura. **Doenças e pragas.** Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/doencas/diaphorina-citri/24>>
Acesso em: 29/10/2014.

GRAVENA, S., GRAVENA, R., SILVA, J. L., SILVA, M. T. F., BENVENGA, S. R., AMORIM, L. C. S., et. al. **Efeito fisiológico do inseticida pyrifoxifen no controle do psíldeo dos citros em laranja doce.** Research & Technology. 2010; 31(2): 145-154

JÚNIOR, J. B., 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. 2010; 31(1): 53-54

LOPES, J. M. S., DÉO. T. F. G., ANDRADE, B. J. M., GIROTO, M., FELIPE, A. L. S., JÚNIOR, C. E. I., et al. **Importância econômica dos citros no Brasil.** Revista Cient. Eletrônica de Agronomia. Periódico Semestral. Dezembro de 2011.

NAVA, D.E.; GÓMEZ-TORRES, M.L.; RODRIGUES, M.D.; BENTO, J.M.S.; PARRA, J.R.P. **Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures.** Journal of Applied Entomology 131: 709-715, 2007.

NAVA, D.E.; NASCIMENTO, A.M.; CAMARGO, N.C.; PARRA, J.R.P. **Desenvolvimento embrionário e ninfal de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em diferentes umidades relativas.** In: XX Congresso Brasileiro de Fruticultura, 2008, Vitória. CD, 2008. v.1.

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

PINTO A. P. F., **Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 ao psíldeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Waterson) (Hemiptera: Psyllidae) e compatibilidade com produtos fitossanitários.** 2012; p.22. Dissertação – área de concentração Sanidade Segurança Alimentar e o Ambiente.

ROHRIG E. **An Asian citrus psyllid parasitoid scientific name: *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alamand Agarwal) (Insecta: Hymenoptera; Encyrtidae).** Disponível em: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/beneficial/wasps/diaphorencyrtus_aligarhensis.htm>