

**FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA
MESTRADO PROFISSIONAL EM
CONTROLE DE DOENÇAS E PRAGAS DOS CITROS**

DENIS ROGERIO MARIN

**Densidade e raio de dispersão de *Tamarixia radiata* (Waterston)
(Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri*
Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em pomares cítricos**

Dissertação apresentada ao Fundo de Defesa da
Citricultura como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Fitossanidade

Orientador: Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe

Coorientador: Dr. José Roberto Postali Parra

**Araraquara
Setembro 2019**

**FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA
MESTRADO PROFISSIONAL EM
CONTROLE DE DOENÇAS E PRAGAS DOS CITROS**

DENIS ROGERIO MARIN

**Densidade e raio de dispersão de *Tamarixia radiata* (Waterston)
(Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri*
Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) em pomares cítricos**

Dissertação apresentada ao Fundo de Defesa da
Citricultura como parte dos requisitos para obtenção
do título de Mestre em Fitossanidade

Orientador: Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe

Coorientador: Dr. José Roberto Postali Parra

**Araraquara
Setembro 2019**

M337d Marin, Denis Rogério
Densidade e raio de dispersão de *Tamarixia radiata* (Waterston)
(Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama
(Hemiptera: Liviidae) em pomares cítricos / Denis Rogério Marin, 2019.
28 f.

Orientador: Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe
Coorientador: Dr. José Roberto Postalí Parra

Dissertação (Mestrado) – Fundo de Defesa da
Citricultura, Araraquara, 2019.

1. Controle biológico em citros 2. Método de liberação de inimigos naturais
3. Dispersão de parasitoide 4. Huanglongbing I. Título

DENIS ROGÉRIO MARIN

Dissertação apresentada ao Fundo de Defesa da
Citricultura como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Fitossanidade

Araraquara, 23 de setembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA


Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe (Orientador)
Fundo de Defesa da Citricultura – FUNDECITRUS, Araraquara/SP


Dr. José Roberto Postali Parra (Coorientador)
Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba/SP


Dr. Alexandre José Ferreira Diniz
Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba/SP


Dr. Marcelo Pedreira de Miranda
Fundo de Defesa da Citricultura – FUNDECITRUS, Araraquara/SP

DEDICATÓRIA

A minha esposa, amiga e companheira de todas as horas Tamiris Garcia Marin por estar sempre ao meu lado, nunca desistir e acreditar que seria possível. Você sempre será meu grande amor e minha maior fonte de inspiração.

Aos meus pais Ivanir A. Mendonça Marin e Valdomiro Marin (*in memoriam*) por todo amor, empenho e dedicação na minha formação.

Aos meus amigos João G., Claudia, Emerson, André, Renato, Marcos, Tiago, Fernando, Rafael, Daniel G., Adriano, João R., Geraldo, Milena, Cristiam (*in memoriam*), Lucas, Everton, Daniel A., Daniel F., Gabriel e ao professor Luiz que sempre estiveram ao meu lado.

A toda minha família, em especial a Denise, Marco, Junior, Maria Carolina, Paulo, Camila, Fernando, Fabiana e Paulo.

Aos meus avós do céu Serafim, Josefa, Antônio e Alzira que continuem iluminando meus caminhos.

Aos meus avós da terra Odila, Faustino e Maria pelo acolhimento e carinho.

Sem o apoio e confiança de vocês nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

A todos os professores e colegas do ciclo do mestrado, obrigado pelos ensinamentos e pela amizade.

À Citrosuco por permitir a realização desse curso.
Aos companheiros Helton Carlos de Leão e Eduardo Lopes pela oportunidade e confiança.

À equipe de controle biológico da fazenda Itapetininga, Rosimeire, Rosimara, Alcinéia e Marlene pela dedicação na execução desse trabalho.

Aos amigos e colegas de trabalho Guilherme Frare, Tiago Roberto, Fernando Zorzenon, Felipe Motta, Acácio Augustinho, Vitor Beloti, Vanilso Lima, Janaina Munhoz, Valeria Sonogo e Claudinei Correa.

Ao professor, orientador e amigo Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe pela dedicação, paciência e direcionamento.

Ao professor e coorientador Dr. José Roberto Postali Parra pelo direcionamento, exemplo de trabalho e dedicação ao controle biológico na agricultura.

Aos pesquisadores Dr. Marcelo Pedreira de Miranda, Dr. Odimar Zanardi, Dr. Arthur Tomaseto, Dr. Renato Beozzo Bassanezi e Dr. Welinton Ivo Eduardo pelas valiosas contribuições no planejamento, análises e revisões.

Ao Dr. Alexandre José Ferreira Diniz pelo auxílio nas discussões do experimento e redação deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo número 17/21460-0 pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

**Densidade e raio de dispersão de *Tamarixia radiata* (Waterston)
(Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama
(Hemiptera: Liviidae) em pomares cítricos**

Autor: Denis Rogerio Marin

Orientador: Dr. Haroldo Xavier Linhares Volpe

Coorientador: Dr. José Roberto Postali Parra

Resumo

O primeiro relato do HLB (huanglongbing) no Brasil ocorreu em 2004 e sua rápida disseminação deve-se à alta capacidade de dispersão do inseto vetor, *Diaphorina citri*. Um dos principais desafios para o manejo desta praga é a eliminação dos pomares abandonados e plantas hospedeiras de áreas onde não é realizado o controle de *D. citri*, pois constituem fontes de inóculo primário de *Candidatus Liberibacter* spp. Frente ao exposto, iniciou-se um programa de controle biológico desse inseto vetor por meio de liberações inoculativas de *Tamarixia radiata*. No entanto, não existem estudos para as condições brasileiras de um método adequado para a liberação desse parasitoide visando atender satisfatoriamente a área a ser manejada. Assim, o objetivo do trabalho foi determinar o raio de ação em função da densidade de liberação de *T. radiata* para o controle de ninfas de *D. citri*. Para este fim, 200, 400, 800, 1600 e 3200 parasitoides/hectare foram liberados a 7,5; 15,0; 22,5 e 30,0 metros de *seedlings* de laranja Valência contendo 35 ninfas de *D. citri* de terceiro ínstar, fixados nas árvores da mesma cultivar enxertadas em limão cravo para avaliar o parasitismo pelos adultos de *T. radiata* liberados. Houve também avaliações do parasitismo natural, anteriormente à execução do experimento. Utilizou-se um delineamento em blocos com parcelas casualizadas com 20 tratamentos (5 densidades x 4 raios de liberação) e 6 repetições realizadas ao longo do tempo. Não houve parasitismo natural em nenhum dos tratamentos avaliados. Para o raio de 7,5 metros, o maior parasitismo (73,97%) foi obtido para a liberação de 3200 parasitoides/ha. Para o raio de 15,0 metros, 3200 parasitoides/ha também proporcionaram o maior parasitismo (30,62%), diferindo estatisticamente das demais densidades. O parasitismo não ocorreu para densidades inferiores a 800 parasitoides/ha e raios superiores a 15 metros. A maior distância e área de dispersão do parasitoide foram de 9,15 m e 99,67 m² quando liberados 3200 parasitoides/ha. Conclui-se que as liberações de 3200 *T. radiata* distribuídas em 56 pontos equidistante por hectare (raios de 7,5 metros e 57 parasitoides por ponto de liberação), é o método mais indicado para o controle biológico de ninfas de *D. citri*.

Palavras-chave: Controle biológico em citros, método de liberação de inimigos naturais, dispersão de parasitoide, Huanglongbing.

**Density and dispersion radius of *Tamarixia radiata* (Waterston)
(Hymenoptera: Eulophidae) for the control of *Diaphorina citri* Kuwayama
(Hemiptera: Liviidae) in citrus groves**

Author: Denis Rogerio Marin

Advisor: Haroldo Xavier Linhares Volpe

Co-advisor: José Roberto Postali Parra

Abstract

The first report of Huanglongbing (HLB) in Brazil occurred in 2004 and its rapid spread was due to the high capacity of long-distance dispersion of the insect vector, *Diaphorina citri*. One of the main challenges for the control this of pest is the elimination of the abandoned groves and host plants of areas where the insect vector management is not performed since they are primary inoculum sources of *Ca. Liberibacter* spp. Thus, a biological control program for the insect vector management was initiated through inoculative releases of *Tamarixia radiata*. However, there are no studies for Brazilian conditions of an adequate release method for *T. radiata* aiming to satisfactory cover the area that needs to be handled. Therefore, the aim of the study was to determine the density and *T. radiata* release radius for the control of *D. citri* nymphs. For this purpose, 200, 400, 800, 1.600 and 3.200 parasitoids/hectare were released to 7.5, 15.0, 22.5 and 30.0 meters of citrus sweet orange seedlings variety 'Valencia' containing 35-*D. citri* nymphs in instar third and fourth. The seedlings were attached in tree of citrus sweet orange 'Valencia' grafted on Rampur lime to assess parasitism by *T. radiata* adults released. There was also assessment of the natural parasitism before the execution of the experiment. The experiment was conducted in block design with randomized plots with 20 treatments (5-densities x 4- radius) and six replicated over time. There was no natural parasitism in any treatment. For the 7.5 meters radius, the highest parasitism (73.97%) were observed to the 3.200 parasitoids/ha. For the 15 meters radius, 3.200 parasitoids/ha showed the highest parasitism (30.62%) and statistically differed from the other densities. Null parasitism was observed for densities lower than 800 parasitoids/ha e radius higher than 15 meters. The highest distance and parasitoid dispersion area was 9.15 m and 99.67 m² when 3.200 parasitoids were released. In conclusion, 3.200 *T. radiata* arranged in 56 equidistant release points by hectare (7.5-meters radius and 57 parasitoids/release point) is the most recommended protocol for the biological control of *D. citri* nymphs.

Keywords: Citrus biological control, natural enemies release method, parasitoid dispersion, Huanglongbing.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	5
2.1. Descrição da área experimental	5
2.2. Produção de <i>seedling</i> de laranjeira Valência	5
2.3. Produção de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> e adultos de <i>Tamarixia radiata</i>	6
2.4. Determinação do número de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> por <i>seedling</i>	7
2.5. Avaliação do parasitismo natural de ninfas de <i>Diaphorina citri</i>	8
2.6. Densidade e raio de liberação de <i>Tamarixia radiata</i>	8
2.7. Avaliação do parasitismo de <i>Tamarixia radiata</i> em ninfas de <i>Diaphorina citri</i>	10
2.8. Monitoramento das condições climáticas	11
2.9. Área e distância de dispersão de <i>Tamarixia radiata</i>	11
2.10. Análises estatísticas	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
3.1. Parasitismo natural da área experimental	13
3.2. Taxa de recuperação ninfas de <i>Diaphorina citri</i> e porcentagem de parasitismo de <i>Tamarixia radiata</i>	13
3.3. Dados meteorológicos.....	15
3.4. Área e distância de dispersão de <i>Tamarixia radiata</i>	19
4. CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) do mundo e grande parte dos pomares estão localizados no estado de São Paulo, sudoeste de Minas Gerais e sul do Triângulo Mineiro, com um parque citrícola estimado em 175,27 milhões de árvores produtivas (Fundo de Defesa da Citricultura, 2018). O país detém atualmente mais da metade da produção mundial de suco de laranja e exporta 77% da produção, o que torna a citricultura uma das principais atividades do agronegócio nacional (FNP Consultoria e Comércio, 2016).

Todo este potencial produtivo é constantemente ameaçado por uma gama de doenças e pragas. Dentre os vários problemas fitossanitários que afetam a citricultura, o Huanglongbing (HLB ou Greening) é considerada a doença mais importante e devastadora na cultura dos citros. Principalmente por não existir medidas curativas, atacar todas as variedades comerciais, ser disseminada rapidamente e causar elevados danos à produção e qualidade da fruta, comprometendo a longevidade produtiva e econômica dos pomares afetados (Bové, 2006).

O primeiro relato do HLB no Brasil ocorreu em 2004 em pomares da região central do estado de São Paulo (Coletta Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005). Desde então, a doença se disseminou rapidamente por todo o parque citrícola paulista. Atualmente afeta 18,2% das laranjeiras de São Paulo e do Triângulo e Sudoeste Mineiro – em números absolutos, são aproximadamente 35,3 milhões de árvores doentes (Fundo de Defesa da Citricultura, 2019).

O HLB no Brasil está associado às bactérias gram-negativas, de colonização restrita ao floema e não cultiváveis em meio de cultura, denominadas ‘*Candidatus Liberibacter asiaticus*’ e ‘*Ca. L. americanus*’. (ColettaFilho et al., 2004; Teixeira et al., 2005), ambas disseminadas pelo psílídeo-asiático-dos-citros *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Capoor et al., 1967; Yamamoto et al., 2006).

A rápida disseminação primária e secundária do HLB deve-se a alta capacidade de dispersão de *D. citri*, relacionada intimamente com a presença de brotações das plantas hospedeiras (Tomaseto, 2012). A disseminação primária caracteriza-se pela entrada do patógeno em um determinado local a partir de fontes de inóculo externa; por sua vez, a secundária, ocorre quando há veiculação do patógeno dentro do pomar por meio do movimento de psílídeos infectivos (Bergamin-Filho et al., 2016).

Um dos principais desafios para o manejo do HLB é a eliminação dos pomares abandonados e sem o controle de *D. citri*, pois constituem fontes de inóculos primários de *Ca. Liberibacter* spp e servem de locais de reprodução de *D. citri*. Essas áreas estão presentes em

todo o parque citrícola do estado de São Paulo, principalmente em áreas próximas aos pomares comerciais correspondem a 6.510 ha (Fundo de Defesa da Citricultura, 2017).

Por conseguinte, mesmo com um programa intensivo para o manejo do inseto vetor adotado pelas fazendas produtoras de citros, ocorre a migração de insetos infectivos de áreas não manejadas para pomares comerciais, principalmente nas bordas das propriedades, onde a proporção de plantas infectadas pelas bactérias tem sido mais pronunciada (Bergamin Filho et al., 2016).

Uma vez que não existem medidas curativas ou variedades de citros resistentes, o manejo do HLB está focado principalmente no controle químico do inseto vetor *D. citri* (Gottwald, 2010). Dessa forma, aplicações frequentes de defensivos químicos são realizadas para prevenir as infecções, aumentando os riscos de contaminações do meio ambiente, as populações de pragas resistentes e os custos de produção (Parra et al., 2016).

Frente ao exposto, um programa de manejo integrado de *D. citri* e HLB foi desenvolvido visando ações conjuntas entre citricultores, chamado de manejo regional. Com base em trabalhos de pesquisa e validação dos resultados em campo, um conjunto de medidas de controle foi definido como os “Dez mandamentos” e que correspondem a: 1) planejamento e escolha do local do plantio, 2) plantio de mudas sadias e de qualidade, 3) aceleração do crescimento e da produtividade das plantas, 4) manejo intensificado da faixa de borda, 5) inspeção frequente de todas as plantas do pomar, 6) erradicação de plantas sintomáticas, 7) monitoramento e controle do psíldeo, 8) manejo regional, 9) alerta fitossanitário e 10) ações externas de manejo como a eliminação de plantas doentes, focos primário de inóculo, juntamente com o controle biológico do inseto vetor (Ayres, et al., 2018).

Dentre as ações externas para evitar a infecção primária do HLB, preconiza-se a erradicação de rutáceas hospedeiras de *D. citri* e de plantas cítricas sintomáticas. No entanto, muitas vezes não é possível executar a erradicação de todas as plantas presentes fora dos pomares comerciais. Seja pela dificuldade de encontrar todas as plantas hospedeiras, ou mesmo por motivos particulares dos proprietários que podem ser econômicos, cultural ou alimentícios. Nestes casos, preconiza-se o uso do controle biológico por meio de liberações de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) visando o controle de ninfas de *D. citri*.

O parasitoide *T. radiata* é originário de Taiwan, mas no final da década de 1990 já havia sido encontrado no Japão, Tailândia, Vietnã, EUA, dentre outros países (Hoy & Nguyen, 2001). No Brasil o primeiro relato de *T. radiata* ocorreu em 2004-2005 no estado de São Paulo, indicando a ocorrência natural do parasitoide (Gómez-Torres et al., 2006).

Este himenóptero é um ectoparasitoide de ninfas de *D. citri*, cujas fêmeas depositam seus ovos na superfície ventral da ninfa, preferencialmente de terceiro e quarto ínstar (Hall et al., 2010). O ovo é translúcido e o período embrionário é de aproximadamente dois dias (Chien & Chu, 1996). As larvas eclodidas sugam a hemolinfa do hospedeiro no final do desenvolvimento, transformando-as em múmias, que são seladas ao tecido da planta para proteção da pupa. O período larval é de aproximadamente 10 dias a temperatura de 25°C (Gómez-Torres et al., 2012). A longevidade é de nove e onze dias para machos e fêmeas, respectivamente. A reprodução dá-se por partenogênese arrenótoca, ou seja, ovos haploides dão origem a machos e ovos diploides (fecundados) originam fêmeas e a taxa de progênie é altamente correlacionada com a idade do parasitoide. Uma fêmea de *T. radiata* tem a capacidade de controlar, por parasitismo e/ou alimentação, cerca de 500 ninfas de *D. citri* (Chien & Chu, 1996).

Estudos de bioecologia realizados por Nava et al. (2010) determinaram as condições adequadas de temperatura (25°C), umidade relativa (70%) e fotoperíodo (14h de luz e 10h escuro) para o desenvolvimento de *T. radiata*, permitindo uma otimização da criação em laboratório em larga escala. Viabilizando a criação de um programa de controle biológico de *D. citri* no Brasil, que se iniciou em 2012 por meio de liberações inoculativas de *T. radiata*, como medida complementar para supressão populacional do inseto vetor (Parra et al., 2016).

Este método de controle, diferentemente do controle químico, tem sido aceito pelos proprietários de áreas não comerciais, por não deixar resíduos nos frutos, permitir consumo imediato e conferir menor impacto ao ambiente. Tal fato estimulou a criação de biofábricas de *T. radiata*, havendo em meados de 2019, sete biofábricas de *T. radiata* no estado de São Paulo, uma no estado do Paraná e uma no estado da Bahia.

Para a liberação de *T. radiata* utiliza-se a densidade de 400 parasitoides por hectare, seguindo o procedimento adotado no México (Sagarpa, 2014). Porém, não há estudos com densidade de liberação e raio de ação de *T. radiata*, que comprovem sua eficácia para as condições dos pomares brasileiros, sendo primordial estes estudos para que um programa de controle biológico alcance sucesso e se estabeleça. Prezotti & Parra (2002). Relatam que resultados insatisfatórios devido à métodos ineficientes para liberação podem resultar em uma divulgação negativa e comprometer todo um programa de controle biológico desenvolvido ao longo de anos de pesquisa.

Devido a isso há uma grande necessidade de estudos para determinar a densidade e raio de ação de *T. radiata* para as condições dos pomares brasileiros. Essas informações são fundamentais para melhorar a eficiência do parasitoide e conseqüentemente para o sucesso

deste programa de controle biológico. Akey (1991) já relatava que, informações sobre a capacidade de dispersão efetiva em função da densidade de liberação de parasitoides auxiliam na determinação do número de indivíduos a serem liberados e a distância entre os pontos de liberação nos pomares.

Kareiva (1982) e Hopper & Roush (1993) descrevem que a capacidade de dispersão é muito importante para o manejo de insetos-pragas e o estabelecimento de insetos benéficos introduzidos para controle de pragas agrícolas, sendo o conhecimento da capacidade de dispersão fundamental para assegurar uma boa distribuição na área desejada. Por sua vez, Kanour Junior & Burbutis (1984) e Botelho (1997) relatam que o conhecimento do raio efetivo de ação do parasitoide é fundamental para determinar o número ideal de pontos de liberação por área.

Nesse contexto, pode-se afirmar que informações sobre a densidade e o raio de ação do parasitoide *T. radiata* são fundamentais para assegurar a eficácia de suas liberações em campo. Uma maior eficiência do parasitoide *T. radiata* nos pontos de liberação terá influência direta na redução população de *D. citri*, das infecções primárias e conseqüentemente na quantidade de plantas infectadas por HLB nas propriedades comerciais de produção de citros. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a densidade e o raio de liberação de *T. radiata* mais adequados para o controle de ninfas de *D. citri* em pomares de citros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Descrição da área experimental

Os ensaios foram realizados na fazenda Monte Verde, com produção comercial de citros do grupo Citrusuco Agroindústria/SA, localizada no município de Itapetininga, São Paulo. Os talhões utilizados foram o 22112 e 22114 com espaçamento de 7,0 x 4,0 m, em uma área de 37,8 hectares, com a variedade Valência [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae)], enxertada em limão Cravo [*Citrus limonia* (L.) Osbeck (Rutaceae)], de vinte e seis anos de idade, com um volume médio de copa/planta de aproximadamente 96 metros cúbicos (4,00 mts entre plantas x 4,49 mts profundidade x 5,35 mts altura) (Figura 1).



Figura 1. Imagem de satélite local de instalação do experimento nos talhões 22112 e 22114 localizados na fazenda Monte Verde – Itapetininga - SP. Os círculos vermelhos representam as marcações dos raios de 7,5; 15,0; 22,5 e 30,0 metros, onde foram avaliadas parasitismo de ninfas de *D. citri* proporcionados pela liberação de diferentes densidades de *Tamarixia radiata*. Imagem fora de escala. (Fonte: Google Earth).

2.2. Produção de *seedling* de laranjeira Valência

Uma das estratégias utilizadas pelos inimigos naturais para localização de seus alvos biológicos são os voláteis, que podem ser emitidos tanto pelo inseto hospedeiro como pela

planta hospedeira da praga (Vinson 1991). Para padronização desse fator, foi utilizado para infestação de ninfas de *D. citri*, *seedlings* da mesma variedade de copa dos talhões da área experimental.

Dessa forma, em setembro de 2017, seis caixas de com aproximadamente duzentos frutos maduros da variedade Valência foram coletados da copa das plantas dos talhões da área experimental. Posteriormente foi realizado os processos de extração, lavagem, secagem e sementeira das sementes. Após seu desenvolvimento realizou-se a poda apical para estimular a brotação em que foram acondicionadas as ninfas.



Figura 2. *Seedlings* de laranjeira Valência formados para utilização nos experimentos de raio de ação e densidade de liberação de *Tamarixia radiata* para controle de ninfas de *Diaphorina citri*.

2.3. Produção de ninfas de *Diaphorina citri* e adultos de *Tamarixia radiata*

Para condução dos ensaios utilizou-se ninfas de terceiro instar de *D. citri* e adultos recém emergidos (até 24 horas após emergência) de *T. radiata*, produzidos na biofábrica da fazenda Monte Verde, em que foi realizado o experimento, pertencente ao grupo Citrusuco Agroindústria S/A.

O procedimento de produção de *D. citri* foi adaptado do método descrito por Diniz (2013a). As ninfas de *D. citri* foram produzidas em laboratório com condições controladas

(temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo com 14 h fotofase e 10 h de escotofase), em plantas de murta, *Murraya paniculata* (L.) Jack, com aproximadamente 60 centímetros de altura, cultivadas em vasos plásticos de 18 litros em substrato de fibra de coco, na densidade de 10 plantas por vaso. Em cada vaso foram confinados de 350 adultos de *D. citri* não separados por sexo sobre suas brotações. Após 7 dias de confinamento, retirou-se os insetos e quando as ninfas atingiram o terceiro e quarto ínstar foram transferidas para os *seedlings* de laranjeira Valência com o auxílio de um pincel fino com cerdas macias (Figura 3).



Figura 3. Vaso de 18 litros com 10 mudas de murtas para confinamento de *Diaphorina citri* (A). Planta de murta com ninfas de *D. citri* após 11 dias do confinamento (B). Procedimento de transferência das ninfas de *D. citri* para os *seedlings* de laranjeira Valência (C). *Seedlings* com as ninfas sentinelas na área experimental (D).

Para a criação do parasitoide, ninfas de terceiro e quarto instar de *D. citri* foram oferecidas a adultos recém-emergidos de *T. radiata* na proporção de 20:1, respectivamente. Passados 12 dias (período de ovo a adulto do parasitoide), os insetos da geração F1 foram coletados com auxílio de um painel de luz e bomba sucção entomológica e acomodados em tubos Falcon de 50 ml contendo pequenas gotas de uma solução nutritiva de mel 80% e própolis 20%.

2.4. Determinação do número de ninfas de *Diaphorina citri* por *seedling*

Um estudo preliminar foi realizado para determinar a quantidade de ninfas expostas ao parasitoide no campo, de modo a não ocorrer o parasitismo em 100% das ninfas, o que inviabilizaria a determinação da capacidade máxima de parasitismo por ponto amostral. Dessa forma, preliminarmente ao experimento avaliou-se o parasitismo por *T. radiata* em ninfas de *D. citri* em três densidades (15, 25 e 35 ninfas/*seedling* de laranjeira doce da variedade

Valência). Neste teste utilizou-se o menor raio (7,5 metros) e a maior densidade de liberação (3200 parasitoides/hectare) de *T. radiata*. A disposição dos *seedlings* na planta e a liberação de adultos de *T. radiata* seguiu o procedimento descrito no item 2.6 e cada *seedling* foi considerado uma repetição (4 repetições/tratamento).

2.5. Avaliação do parasitismo natural de ninfas de *Diaphorina citri*

O parasitismo natural por *T. radiata* em ninfas de *D. citri* na área experimental foi avaliado sete dias antes da liberação de *T. radiata*, para as seis repetições realizadas ao longo do tempo. Para isso, *seedlings* da variedade Valência contendo 35 ninfas de *D. citri* foram distribuídas em raios de liberação de 7,5 m (quatro *seedlings*), 15,0 m (oito *seedlings*), 22,5 m (doze *seedlings*) e por fim, 32,0 m (dezesesseis *seedlings*). As ninfas ficaram expostas por 48 horas ao parasitismo natural da área de estudo, logo após os *seedlings* foram retirados, cobertos com sacos confeccionados de tecido *voile* e levados ao laboratório, onde avaliou-se a quantidade de ninfas recuperadas e parasitadas por *seedling*.

2.6. Densidade e raio de liberação de *Tamarixia radiata*

Para avaliar a capacidade de dispersão do parasitoide *T. radiata*, foram determinados quatro círculos de liberação de parasitoides com raios de 7,5; 15,0; 22,5 e 30,0 m. No perímetro de cada raio de liberação, “*seedlings*” da variedade Valência, previamente infestados com 35 ninfas de terceiro e quarto ínstar de *D. citri* foram distribuídos na posição periférica do terço superior da copa das plantas (aproximadamente 2 metros de altura) da área experimental. O perímetro de menor raio (7,5 m) recebeu quatro pontos (*seedlings*) distribuídos de forma equidistante. Para os demais perímetros, foram distribuídos *seedlings* na mesma distância adotada para o perímetro de menor raio (7,5 m) (Figura 4).

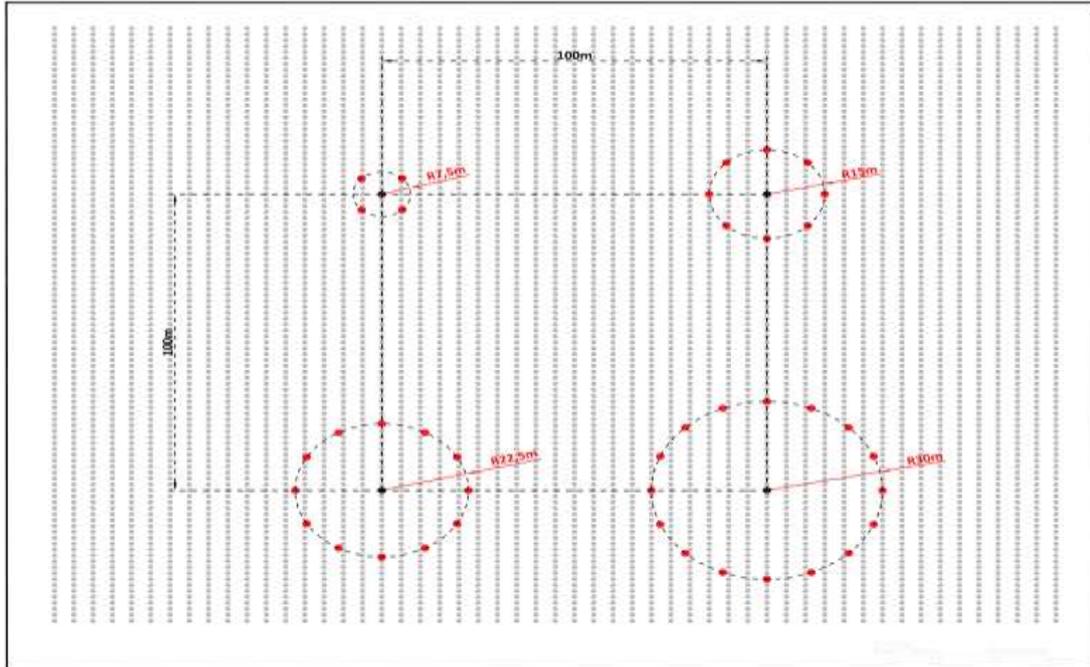


Figura 4. Representação esquemática da disposição dos pontos de liberação de *Tamarixia radiata* (pontos pretos no centro de cada círculo) e dos pontos com *seedlings* de laranja Valência contendo ninfas sentinelas de *Diaphorina citri* (pontos vermelhos) a diferentes distâncias do ponto de liberação.

Para cada raio de liberação foram testadas cinco diferentes densidades de liberação, equivalentes a 200, 400, 800, 1600 e 3200 parasitoides/hectare. A quantidade de parasitoides liberados em cada raio de liberação testado, encontra-se na Tabela 1. Ressalta-se que, todos os pontos nos quais foram distribuídos os *seedlings*, assim como, o ponto de liberação dos parasitoides (centro), foram georreferenciados com auxílio de GPS Garmin Map 78 – 010-00864-00, (Olathe, Kansas - Estados Unidos da América).

Tabela 1. Número de parasitoides liberados por hectare corrigido para cada um dos perímetros circulares.

Número de insetos/ha 10000 m ²	Número de parasitoides (raio = 7,5 m) 176,62 m ²	Número de parasitoides (raio = 15 m) 706,5 m ²	Número de parasitoides (raio = 22,5 m) 1589,625 m ²	Número de parasitoides (raio = 30 m) 2826,0 m ²
200	4	14	32	57
400	7	28	64	113
800	14	57	127	226
1600	28	113	254	452
3200	57	226	509	904

Os círculos de liberação do parasitoide foram separados entre si por uma distância de 100 m, para evitar que parasitoides liberados em um determinado círculo se dispersem entre as

demais (unidades experimentais). Para a liberação foi determinada a razão sexual dos parasitoides da biofábrica, por meio de amostragem de parasitoides emergidos no mesmo período, resultando em um valor médio de 0,66. Utilizou-se o delineamento em blocos com parcelas casualizadas, com 20 tratamentos, (combinações dos 4 raios com as 5 densidades de liberações) e 6 repetições (realizadas ao longo do tempo) (Tabela 2).

Tabela 2. Esquema de distribuição dos tratamentos em função dos parâmetros avaliados no experimento.

Raio (metros)	Densidade de liberação dos parasitoides/hectare				
	200	400	800	1600	3200
7,5	Tratamento 1	Tratamento 2	Tratamento 3	Tratamento 4	Tratamento 5
15,0	Tratamento 6	Tratamento 7	Tratamento 8	Tratamento 9	Tratamento 10
22,5	Tratamento 11	Tratamento 12	Tratamento 13	Tratamento 14	Tratamento 15
30,0	Tratamento 16	Tratamento 17	Tratamento 18	Tratamento 19	Tratamento 20

2.7. Avaliação do parasitismo de *Tamarixia radiata* em ninfas de *Diaphorina citri*

No dia anterior a liberação (24 horas), os parasitoides foram acondicionados em tubos plásticos de centrifugação tipo Falcon de 50 mL contendo um filete de mel puro em seu anterior para alimentação dos parasitoides, seguindo as densidades apresentadas na Tabela 1. Para a liberação, os recipientes contendo os parasitoides foram fixados em um galho da planta a altura de 1,5 m do solo e abertos, permitindo a saída dos parasitoides. As liberações ocorreram entre 8-8:30hs para todos os tratamentos e repetições ao longo do tempo.

Dois dias após a liberação dos parasitoides, ainda em campo, acondicionou-se os *seedlings* em sacos de *voile*, de forma a garantir que, os insetos não se perdessem até o laboratório. Com auxílio de microscópio estereoscópico, os *seedlings* foram inspecionados visualmente para a quantificação das ninfas de *D. citri* recuperadas do campo, e novamente acondicionados nos sacos de *voile* para evitar a fuga dos parasitoides que emergiram das ninfas parasitadas e permitir sua quantificação. Após 15 dias, os “seedlings” foram novamente avaliados, desta vez, para a quantificação dos adultos de *T. radiata* e *D. citri* emergidos. Com os dados obtidos calculou-se a porcentagens do parasitismo e recuperação das ninfas, seguindo as fórmulas abaixo, respectivamente:

$$\text{Porcentagem de parasitismo (\%)} = (\text{NT} * 100) / \text{TN}$$

$$\text{Porcentagem de recuperação de ninfas (\%)} = (\text{NI} - \text{NF}) / \text{N} * 100$$

Onde,

NT = Número de *T. radiata* emergidos/*seedlings*

TN= Total de ninfas recolhidas do campo/*seedlings*

NI = Número de ninfas de *D. citri* utilizadas para infestação inicial dos *seedlings*

NF= Número de ninfas de *D. citri* recolhidas do campo

2.8. Monitoramento das condições climáticas

As condições climáticas (temperatura, umidade relativa do ar, precipitação pluviométrica, pressão atmosférica, direção, velocidade e predominância do vento) foram monitoradas a cada hora para cada uma das seis repetições do trabalho no período que as ninfas de *D. citri* ficaram expostas ao parasitismo de *T. radiata* (48 horas). A finalidade deste monitoramento foi averiguar se tais condições poderiam influenciar nos resultados do parasitismo. Todas as informações climáticas foram obtidas pela estação meteorológica Davis Vantage Pro II, localizada a 100 metros dos talhões da área experimental.

2.9 Área e distância de dispersão de *Tamarixia radiata*

O raio de alcance de ação dos parasitoides também foi calculado para cada densidade de liberação em função dos raios onde foram obtidos parasitismo segundo Dobzhansky & Wright (1943).

$$\text{MD} = \sum (\mathbf{r}^2 \times \mathbf{i}/\mathbf{a}) / \sum (\mathbf{r} \times \mathbf{i}/\mathbf{a}) + \mathbf{C}/2\pi$$

$$\text{S}^2 = \sum (\mathbf{r}^3 \times \mathbf{i}/\mathbf{a}) / \sum (\mathbf{r} \times \mathbf{i}/\mathbf{a}) + \mathbf{C}/2\pi$$

Onde MD = distância média de dispersão (metros); S² = área de dispersão; r = raio de dispersão testados; i = taxa de parasitismo (%) em cada raio; a = número de pontos de infestação por raio (*seedlings*); C = porcentagem média de ninfas parasitadas para cada densidade.

2.10 Análises estatísticas

A porcentagem de ninfas de *D. citri* recuperadas e parasitadas por *T. radiata* em cada *seedling*, bem como o número de adultos de *D. citri* e *T. radiata* emergidos nas diferentes densidades de liberação para o mesmo raio ou nos diferentes raios para a mesma densidade de

liberação foram inicialmente submetidos ao teste de Bartlett (Bartlett, 1937) para verificar a homogeneidade das variâncias e de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) para verificar a normalidade dos resíduos. Todos os dados atenderam esses pressupostos e foram submetidos à análise de variância (ANOVA), logo após, as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Todas as análises foram realizadas utilizando o software R versão 3.5.1. (R Development Core Team, 2018).

Os dados de parasitismo também foram correlacionados com o ponto amostral, gerando gráficos bidimensionais utilizando o Software Surfer 7.0 para Windows (Golden Software Inc., Golden, CO, USA) (Golden Software, 1999) pelo método de interpolação do inverso da raiz quadrada da distância dos pontos com ninfas de *D. citri* parasitismo (raios), considerando a média de ninfas parasitadas obtidas nas repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Parasitismo natural da área experimental

Anteriormente às liberações de diferentes densidades de *T. radiata* para determinação do raio de dispersão, verificou-se a ocorrência do parasitismo natural de ninfas de *D. citri* decorrente de parasitoides já presentes na área. Em nenhuma das seis repetições realizadas observou-se o parasitismo natural de *T. radiata* ou de outro parasitoide, evidenciando que, as taxas de parasitismo observadas após as liberações de *T. radiata* estavam relacionadas exclusivamente à ação dos parasitoides liberados durante a execução dos experimentos.

A espécie de *T. radiata* é extremamente sensível a maioria dos inseticidas utilizados para controle de *D. citri* (Beloti et al., 2018). Como a área experimental foi instalada dentro de uma propriedade comercial que realiza o controle químico do inseto vetor regularmente, esse fator pode ter contribuído para não ocorrência de parasitismo natural.

3.2. Taxa de recuperação ninfas de *Diaphorina citri* e porcentagem de parasitismo de *Tamarixia radiata*

Durante a condução do experimento, as ninfas sentinelas de *D. citri* recuperadas do campo, os adultos de *D. citri* e *T. radiata* emergidos e a porcentagem de ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata* nos *seedlings* foram quantificadas para cada densidade de liberação e distâncias dos raios de liberação (Tabela 3).

Não se observou o parasitismo nas densidades de liberação de 200 e 400 parasitoides/ha, independentemente do raio testado. Nas densidades de 800, 1600 e 3200 parasitoides/ha constatou-se o parasitismo apenas nos menores raios (7,5 e 15,0 m do ponto de liberação). Dessa maneira, os tratamentos sem parasitismo não foram analisados estatisticamente.

Tabela 3. Média e erro padrão da quantidade de ninfas sentinelas de *Diaphorina citri* recuperadas do campo e adultos de *D. citri* e *Tamarixia radiata* emergidos nos *seedlings* de *Citrus sinensis* variedade Valência espaçados equidistantes a 7,5 e 15,0 metros dos pontos de liberação de *T. radiata* em pomar comercial variedade Valência.

Raio (m)	Densidade de liberação (adultos de <i>T. radiata</i> /ha)	Ninfas de <i>D. citri</i> recuperadas	Adultos emergidos de <i>D. citri</i>	Adultos de <i>T. radiata</i> emergidos
7,5	800	30,29 ± 0,56 Aa	24,63 ± 1,02 Ab	1,21 ± 0,63 Ca
	1600	31,04 ± 0,79 Aa	12,67 ± 1,58 Bb	12,13 ± 1,23 Ba
	3200	31,38 ± 0,73 Aa	3,63 ± 0,54 Cb	23,17 ± 1,06 Aa
15,0	800	31,88 ± 0,43 Aa	27,29 ± 0,60 Aa	0,00 ± 0,00 Ba
	1600	30,42 ± 0,43 Aa	26,42 ± 0,44 Aa	1,23 ± 0,27 Bb
	3200	32,04 ± 0,51 Aa	16,88 ± 0,55 Ba	9,83 ± 0,85 Ab

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas entre densidades de liberação de *T. radiata* no mesmo raio e minúsculas entre os raios com mesma densidade de liberação de *T. radiata* não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

O número de ninfas de *D. citri* recuperadas, entre as densidades de liberação do parasitoide para os raios de 7,5 e 15,0 m e entre eles foram significativamente iguais (Tabela 3). O forrageamento das fêmeas dos parasitoides inclui uma série de passos comportamentais sequenciais intermediados por estímulos de natureza física (visuais e mecânicas) e químicas (semioquímicos) (Aquino, 2013). Todo parasitoide busca pistas químicas do hospedeiro para sua localização e conseqüentemente parasitismo. Dessa forma, a recuperação uniforme de ninfas de *D. citri* sentinelas para todos os tratamentos propiciou o fornecimento de pistas químicas/visuais do hospedeiro uniforme entre os tratamentos, o que não implica em favorecimento para o parasitoide encontrar seu hospedeiro dentro de um determinado raio ou densidade, o que seria um fator adicional não desejável no experimento.

Nas áreas em que foram liberadas as densidades de 800 e 1600 parasitoides/ha houve significativamente uma maior quantidade de insetos de *D. citri* emergidos em relação a densidade de 3200 parasitoides/ha, para os dois raios avaliados (Tabela 3). Por outro lado, a quantidade de parasitoides emergidos quando houve a liberação das densidades de 800 e 1600 parasitoides/ha foi significativamente menor comparadas a densidade de 3200 parasitoides/ha liberados em ambos os raios avaliados (Tabela 3). Observou-se ainda que houve uma menor quantidade de parasitoides emergidos no raio de 15,0 m comparado ao de 7,0 m quando foram liberados 1600 e 3200 parasitoides/ha.

A porcentagem de ninfas de *D. citri* parasitadas nos raios de 7,5 e 15,0 m foi significativamente maior quando foi liberada a densidade de 3200 parasitoides/ha em relação as densidades de liberação de 800 e 1600 parasitoides/ha (Figura 5). Comparando os raios de liberação para a mesma densidade de liberação foi observado um maior parasitismo para o raio

de 7,5 m em relação ao de 15,0 m para 1600 e 3200 parasitoides/ha. Para a densidade de 800 parasitoides/ha o parasitismo foi similar entre 7,5 e 15,0 m (Figura 5).

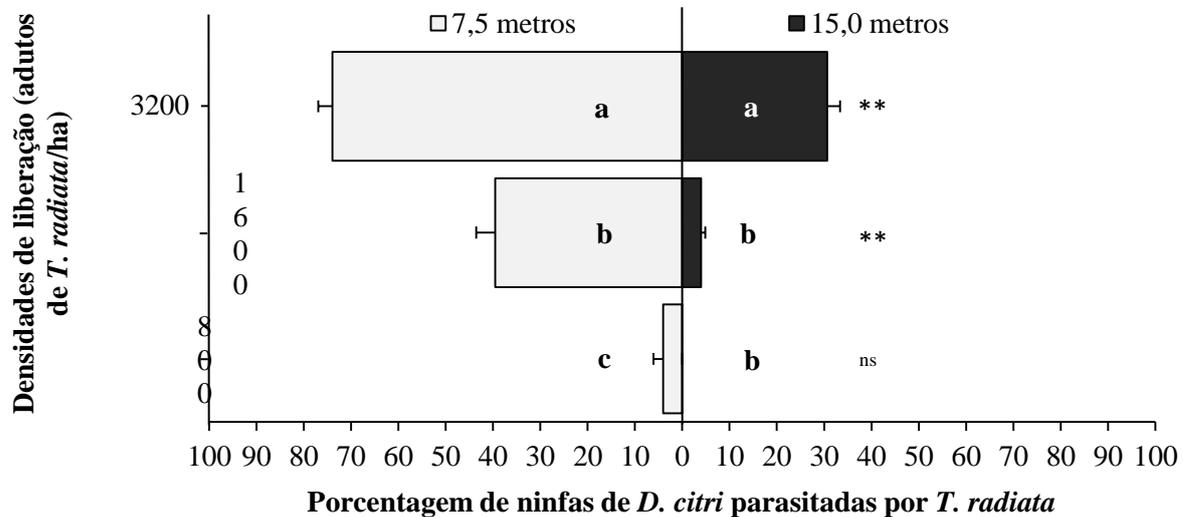


Figura 5. Média e erro padrão da porcentagem de ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas por *Tamarixia radiata* em *seedlings* de *Citrus sinensis* variedade Valência espaçados equidistantes a 7,5 e 15,0 metros dos pontos de liberação de *T. radiata*. Separadamente para cada raio separadamente, as barras seguidas de mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). Separadamente para cada densidade de liberação: **Indica diferença entre as médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,01$) e ^{ns}Indica que não houve diferença entre as médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Houve uma relação direta entre o parasitismo promovido por adultos de *T. radiata* e o número de parasitoides emergidos na geração F1, ou seja, o maior parasitismo promovido pela liberação de 3200 parasitoides/ha em um raio de 7,5 m do ponto de liberação proporciona supressão populacional das ninfas e consequente diminuição de adultos de *D. citri* emergidos, além de possibilitar maior emergência de parasitoides na geração F1, o que pode contribuir com o estabelecimento do parasitoide nas áreas de liberação.

Contrariamente aos resultados de Sagarpa (2014) que recomenda para o controle de *D. citri* a liberação de 400 *T. radiata*/ha liberados em pontos espaçados a 100 metros de distância (100 parasitoides/ponto). Ressalta-se, que para as condições em que foi realizado o experimento, não se observou parasitismo nessa densidade de liberação independentemente dos raios de liberação testados.

3.3. Dados meteorológicos

Os dados climáticos de precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar, temperatura média, pressão atmosférica e por fim, velocidade média e máxima do vento foram coletados a cada 1 h durante o período correspondente a cada repetição do experimento (Figuras 6).

Durante a primeira repetição 04/06/2018 a 06/06/2018 (Figura 6A e B) foi registrado precipitação pluviométrica de 1mm logo ao primeiro dia. A umidade relativa (UR) variou entre 55 a 87%, a temperatura entre 13 a 24 °C, a velocidade média do vento variou entre 0 e 10 km/h e velocidade máxima do vento atingiu 25 km/h.

Durante a segunda repetição realizada de 03/07/2018 a 05/07/2018 (Figura 6C, 6D), não houve registro de chuva. Apenas 0,2 mm que corresponde ao orvalho ocorrido no período da madrugada. A UR variou entre 50 a 82%, a temperatura de 9 a 24 °C, velocidade média do vento esteve entre 0 e 22 km/h e a velocidade máxima obtida foi de 29 km/h.

Durante a terceira repetição realizada entre 15/08/2018 a 17/08/2018 (Figura 6E, 6F), não ocorreu chuva, a UR variou de 51 a 87%, a temperatura variou de 19 a 28 °C, a velocidade média do vento entre 0 e 13 km/h e a velocidade máxima registrada foi de 31 km/h.

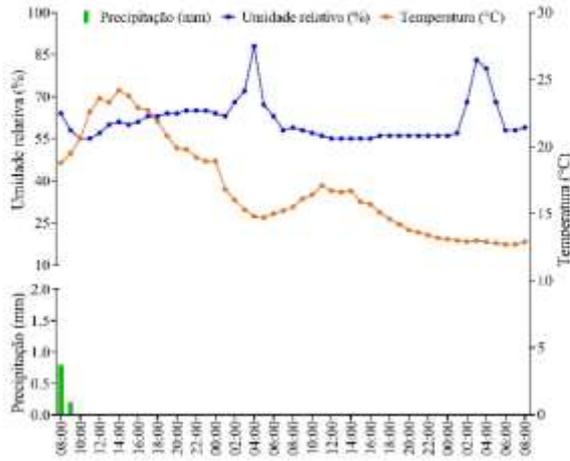
Durante a quarta repetição realizada entre 17/09/2018 e 19/09/2018 (Figura 6G, 6H), também não houve registros de chuva. O registro de 0,2mm correspondeu ao orvalho na madrugada, a UR variou de 41 a 81%, a temperatura variou de 25 a 30 °C, velocidade média do vento entre 0 e 10 km/h e velocidade máxima do vento atingindo 46 km/h.

Durante a quinta repetição, 20/11/2018 e 22/11/2018 (Figura 6I, 6J), também não houve registro de chuva. A UR variou entre 50 a 60%, a temperatura entre 16 e 23 °C, a velocidade média do vento entre 0 e 15 km/h e a velocidade máxima foi de 31 km/h.

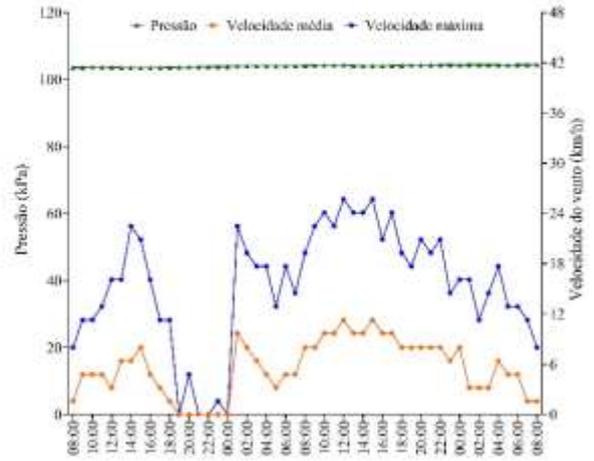
Para a sexta e última repetição realizada entre 18/12/2018 e 20/12/2018 (Figura 6K, 6L), não ocorreu precipitação. Novamente o registro de 0,2 mm correspondeu ao orvalho da madrugada. A UR variou entre 50 a 80%, a temperatura entre 16 a 28 °C, a velocidade média do vento entre 0 e 11 km/h e velocidade máxima atingindo 31 km/h. Os valores de pressão barométrica permaneceram constantes 103 kPa para todas as repetições dos experimentos de campo (Figuras 6A a L).

De forma geral as condições climáticas aferidas em todas as repetições do experimento indicaram que não houve influência desses fatores ambientais no parasitismo de *T. radiata*, haja visto que, os dados coletados (Figura 6) durante a realização do experimento estiveram em grande parte do tempo dentro de uma faixa considerada adequada (20 a 30°C de temperatura e umidade superiores a 50%) para uma boa performance de parasitismo por *T. radita* e bom desenvolvimento de *D. citri* (Diniz, 2013a; Gómez-Torres et al., 2014).

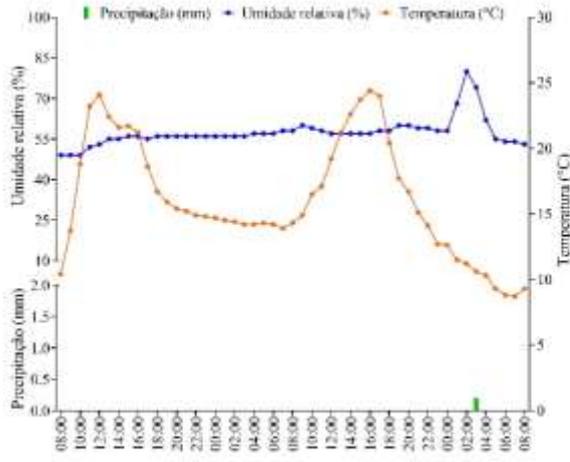
A



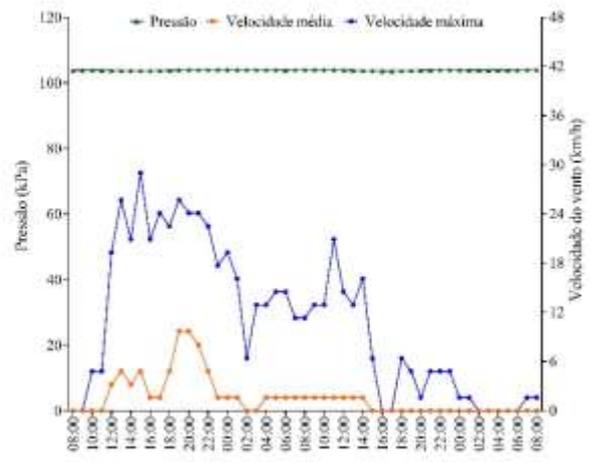
B



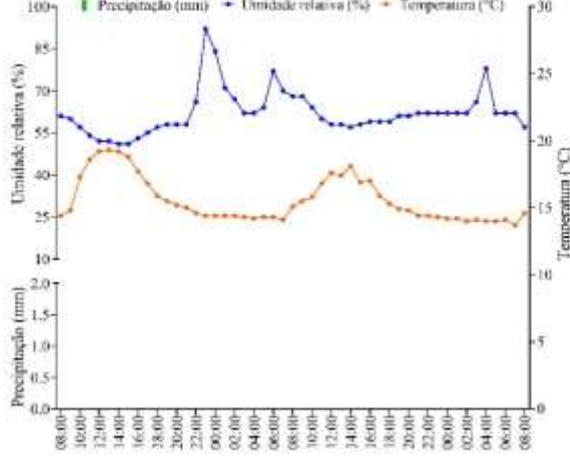
C



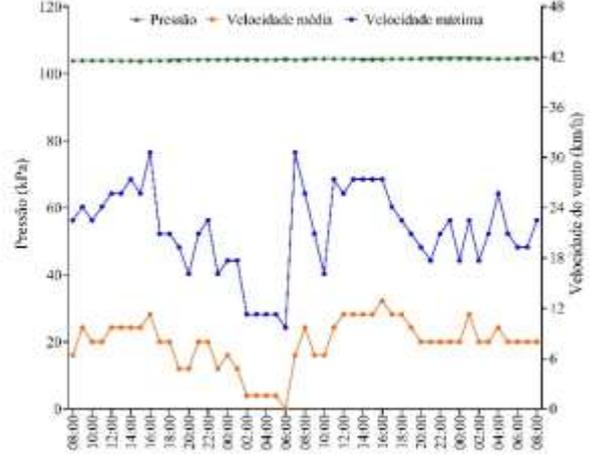
D



E



F



Continua...

Continua...

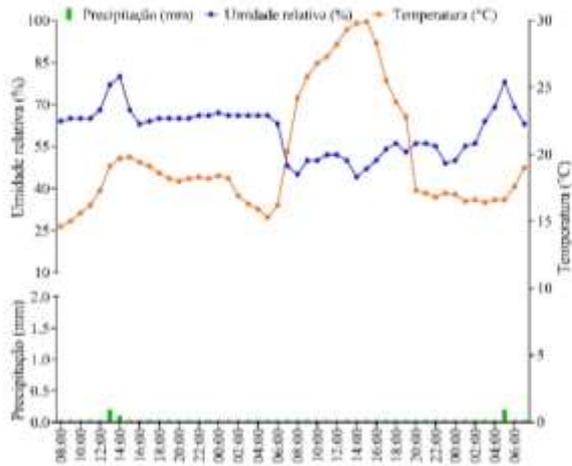
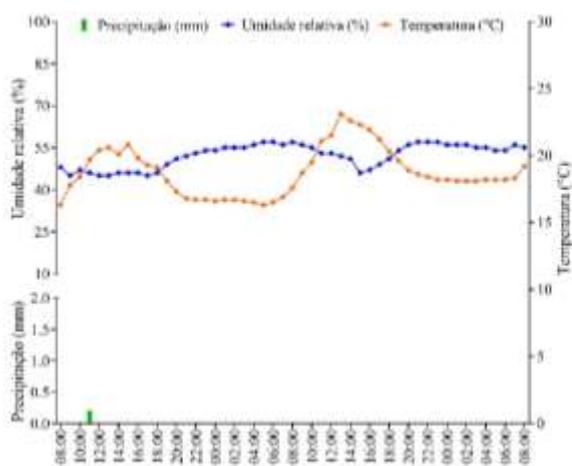
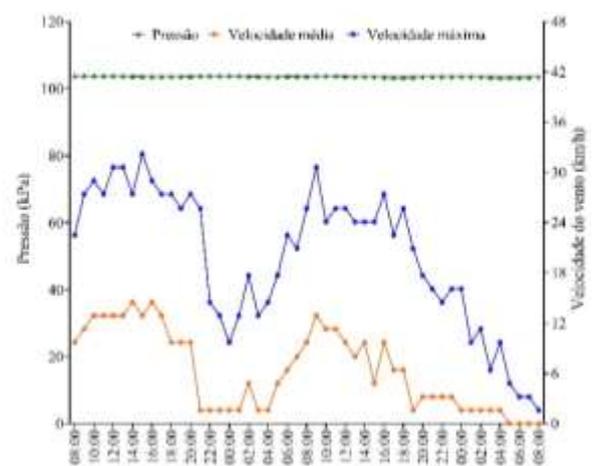
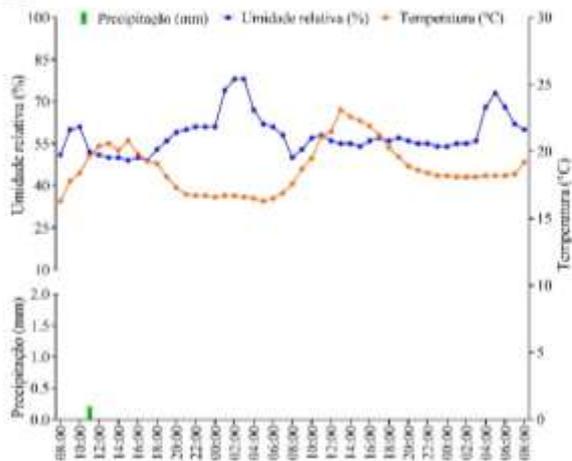
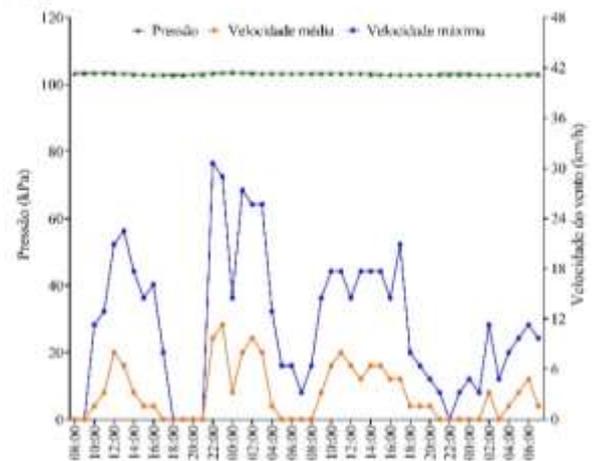
G**H****I****J****K****L**

Figura 6. Condições ambientais aferidas durante a realização do experimento: precipitação, umidade relativa e temperatura (A, C, E, G, I e K) e pressão, velocidades média e máxima (B, D, F, H, J e L) registradas durante a primeira, segunda, terceira, quarta, quinta e sexta liberação/exposição de adultos de *Tamarixia radiata* à ninfas de terceiro instar de *Diaphorina citri*, respectivamente.

3.4 Área e distância de dispersão de *Tamarixia radiata*

A menor distância de dispersão (6,91m) e área de dispersão (51,85 m²) foi obtido por meio da liberação de 800 parasitoides/ha. Para a densidade de 1600 parasitoides/ha foram obtidos valores de distância e área de dispersão intermediários, de 7,60 m e 66,62 m², respectivamente. Já a densidade de 3200 parasitoides/ha apresentou a maior densidade de dispersão e parasitismo, 9,15 m e 99,97 m², respectivamente (Tabela 4). Tal fato foi devido às maiores porcentagens de parasitismo relatadas para essa densidade de liberação nos raios de 7,5 e 15 m (Figura 5).

Tabela 4. Distância e área de dispersão do parasitoide para as densidades de adultos de *Tamarixia radiata* liberados por hectare.

Densidade de <i>T. radiata</i> (adultos/ha)	Distância de dispersão (m)	Área de dispersão (m ²)
800	6,91	51,85
1600	7,60	66,62
3200	9,15	99,67

A liberação na maior densidade de parasitoides por ponto de liberação (3200 parasitoides/ha) propiciou a maior distância de dispersão e área de dispersão, conseqüentemente aumentou a probabilidade de os parasitoides encontrarem o seu hospedeiro à medida que se distanciam do ponto de liberação, incrementando o parasitismo em relação às menores densidades de liberação avaliadas. Ou seja, o número de parasitoides liberados tem relação direta com a eficácia de parasitismo em função da distância de dispersão e área de dispersão.

Por meio da avaliação do parasitismo promovido por *T. radiata* em função da distância do ponto de liberação (Figura 7), verificou-se que para a densidade de 800 parasitoides/ha, o parasitismo foi próximo a zero e se manteve constante para os raios de 7,5, 15,0, 22,5 e 30,0 m do ponto de liberação (Figura 7A), ou seja, a eficácia de parasitismo de ninfas de *D. citri* por *T. radiata* é praticamente nula para essa densidade. Em contraste, Diniz (2013b) observou parasitismo entre 10 e 40% de ninfas de *D. citri* por meio de liberações de 400 *T. radiata*/ha. No entanto, o autor não reporta se houve influência de parasitismo natural e a que distâncias do ponto de liberação foram quantificadas as ninfas parasitadas, fatores que poderiam interferir na eficácia do parasitoide.

Já a densidade de 1600 parasitoides/ha acarretou um parasitismo médio próximo a 40% a 7,5 m do ponto de liberação. No entanto, o parasitismo foi decrescente à medida que os parasitoides se distanciaram dos pontos amostrais, atingindo valor nulo a 22,5 m do ponto de

liberação (Figura 7B). Por se tratar de um inseto vetor de *Ca. L. asiaticus*, considera-se que a eficácia de parasitismo de 40% mesmo a curtas distâncias (7,5 m) é irrelevante na contenção da infecção primária do HLB. Por outro lado, a densidade de 3200 parasitoides/ha foi responsável por uma taxa de parasitismo próxima a 80% a 7,5 m do ponto de liberação e diminuiu para 39,54% à 15 m e próximo a zero à 22,5 m (Figura 7C).

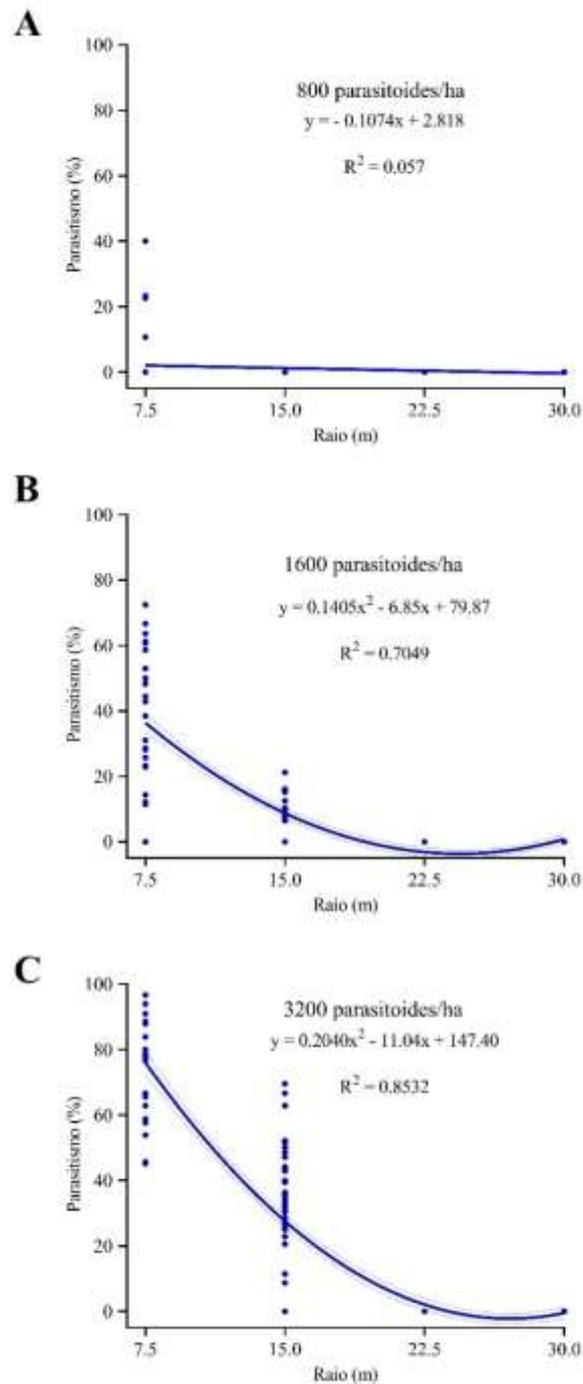


Figura 7. Parasitismo médio de *Tamarixia radiata* em ninfas de *Diaphorina citri* alocadas em diferentes distâncias (raios) do ponto de liberação dos parasitoides. A) Parasitismo médio para liberação

de 800 parasitoides/ha; B) Parasitismo médio para liberação de 1600 parasitoides/ha e C) Parasitismo médio para liberação de 3200 parasitoides/ha.

McDougall & Mills (1997), ao avaliarem o parasitismo de *Trichogramma platineri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos *Sitotroga cerealella* (Oliver) (Lepidoptera: Gelechiidae) acondicionados artificialmente em um pomar de laranja verificaram parasitismo de 80% no ponto de liberação, ou seja menos de 1 metro de raio, somente quando liberados 32,4 mil parasitoides/ha, 10 vezes mais indivíduos do que a maior densidade de liberação de *T. radiata* utilizada neste estudo.

Na Rússia, para o controle de *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) na cultura do milho são liberados cerca de 30 a 50 mil indivíduos de *Trichogramma* sp. por hectare (Beglyarov & Smetnik, 1997). Na China, para o controle de lagartas do gênero *Heliothis* em algodoeiro utiliza-se 215 mil indivíduos de *Trichogramma dendrolimi* Matsumara (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e 640 mil *Trichogramma confusum* (Viggiani) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) por hectare (Li, 1984). Evidencia-se com esses trabalhos que a quantidade de *T. radiata* a ser utilizada para controle de ninfas de *D. citri* é relativamente pequena em comparação com outros programas de controle biológico.

Com base nos gráficos bidimensionais de parasitismo (Figura 8), observa-se uma limitação espacial na densidade de 800 parasitoides/ha. Para essa densidade, a área de cobertura do parasitismo foi praticamente nula, sendo evidenciado parasitismo abaixo de 10% e em apenas uma direção em relação ao ponto de liberação logo aos 7,5 m de raio (Figura 8A).

Para a densidade de 1600 parasitoides/ha (Figura 8B), houve um incremento de aproximadamente 40% de parasitismo, predominantemente no raio de 7,5 m, porém multidirecional, indicando uma área de cobertura mais expressiva em comparação com a densidade de 800 parasitoides/ha.

Por sua vez, a densidade de 3200 parasitoides/ha no raio de 7,5 metros (Figura 8C), observou-se a maior porcentagem de parasitismo (aproximadamente de 80%), diminuindo consideravelmente com o aumento da distância do ponto de liberação ao alvo (ninfas sentinelas). Pelo fato do parasitismo ter sido multidirecional e entre 70 a 80% na distância de 7,5 m, considera-se que essa densidade seja satisfatória para controle de ninfas de *D. citri*.

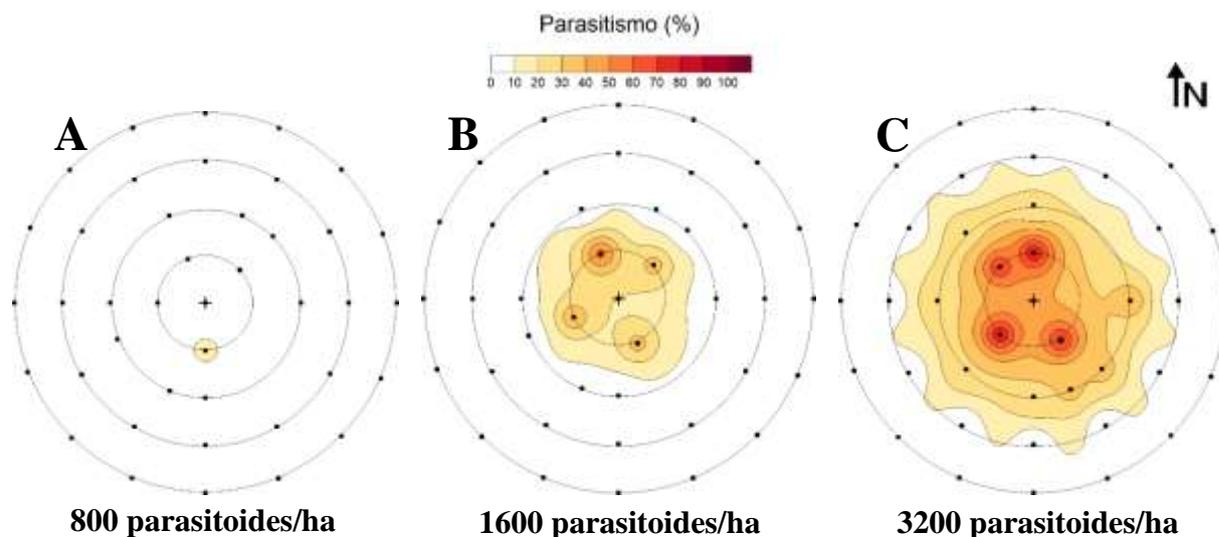


Figura 8. Gráficos bidimensionais do parasitismo médio de *Tamarixia radiata* em ninfas de *Diaphorina citri* alocadas em diferentes distâncias (raios) do ponto de liberação dos parasitoides. Parasitismo para liberação de 800 parasitoides/ha (A); Parasitismo para liberação de 1600 parasitoides/ha (B) e Parasitismo para liberação de 3200 parasitoides/ha (C). A avaliação da porcentagem de parasitismo foi realizada separadamente para cada raio de liberação [7,5; 15,0; 22,5; 30,0 m do alvo (ninfas sentinelas)].

Dentro do contexto da contenção da infecção primária do HLB, considera-se um controle eficiente quando pelo menos 80% da população do inseto é suprimida pela adoção de um método de controle, haja vista o impacto econômico da doença e por se tratar de uma cultura perene. Nesse sentido, apenas a maior densidade (3200 parasitoides/ha) e a menor distância (7,5 m) do ponto de liberação foi eficaz para o controle de ninfas de *D. citri*. McDougall & Mills (1997) relata que o raio de liberação mais adequado para o parasitoide *T. platineri* em pomares de laranja deve ser entre 7 e 10 metros, para uma densidade de liberação de 16,2 mil parasitoides por ponto de liberação. Os autores verificaram um parasitismo de pelo menos 50% dos ovos de *S. cerealella* nessas condições.

O parasitismo eficaz na menor área de dispersão pode ser atribuída ao gasto energético do parasitoide para realizar o parasitismo, uma vez que o parasitoide pode perder “fitness” em função do aumento da distância do ponto de liberação (Biever, 1972). Outro fator importante diz respeito aos parasitoides preferirem voar em corredores de voo, evitando a barreira mecânica promovida pelo dossel das plantas. Assim, o fato de a cultura de citros ser perene e apresentar volume de copa considerável pode ter desfavorecido a dispersão do parasitoide a maiores distâncias. Esse resultado corrobora Gontijo et al. (2010) que relatam que altura e arquitetura da planta tem grande influência na capacidade de dispersão de inimigos naturais.

Baseando-se na eficácia promovida por 3200 parasitoides/ha a distância de 7,5 m, pode-se recomendar a adoção de cinquenta e seis pontos de liberação por hectare com cinquenta e

sete parasitoide por ponto de liberação espaçados 15 metros entre si visando o controle de ninfas de *D. citri* em pomares de citros orgânicos ou abandonados. No entanto, para a contenção da infecção primária do HLB em pequenas áreas (ex: quintais, chácaras e jardins), onde as plantas cítricas estão esparsas, recomenda-se a liberação de 57 parasitoides por planta, no caso das plantas estiverem espaçadas entre si mais que 15 m. Essas informações são essenciais para o desenvolvimento de um programa de controle biológico para *D. citri* em pomares abandonados, orgânicos e em hospedeiros rutáceos localizados próximos aos pomares comerciais de citros.

No entanto, vislumbra-se estudos com maiores densidades de liberação, visando incrementar o parasitismo promovido por *T. radiata* a distâncias superiores a 7,5m. Caso maiores densidades de liberação atendam satisfatoriamente raios maiores (ex. 15 ou 22,5 m), facilitará o procedimento de liberação dos parasitoides por caminhamento e trará maior praticidade a essa operação. No entanto, como não havia embasamento de estudos científicos que mensuraram a eficácia de parasitismo de *T. radiata* em função da densidade de liberação e distância, o presente estudo tomou como base o padrão de 400 parasitoides/ha já reportados por (Sagarpa, 2014).

Nesse sentido, o método empregado nesse estudo e resultados apresentados para a faixa de 200 a 3200 parasitoides/ha podem contribuir para a continuidade dos estudos com maiores densidades de liberação, buscando incremento ao método de liberação de *T. radiata*.

4. CONCLUSÃO

Nas condições do experimento:

A liberação de 3200 parasitoides/ha distribuídos em 56 pontos equidistantes (aproximadamente 57 parasitoides/ponto), é a mais adequada para o controle de *D. citri*.

As densidades de 200, 400, 800 parasitoides/ha não são eficazes para o controle de ninfas de *D. citri*.

o raio máximo de dispersão de *T. radiata* foi de 15,0 m, independentemente da densidade de liberação de *T. radiata*.

REFERÊNCIAS

Akey, D.H. 1991. A review of marking techniques in arthropods and an introduction to elemental marking. **Southwestern Entomologist** 14:1-8.

Aquino, M.F.S., Dias, A.M., Borges, M., Blassioli-Moraes, M.C., Laumann, R.A. 2013. Influence of visual cues on host searching behavior of the egg parasitoids *Telenomus podisi* and *Trissolcus basalus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 145:162-174.

Ayres, J.A., Sala, I., Miranda, M.P., Wulff, N.A., Bassanezi, R.B., Lopes, S.A. 2018. **Manejo do greening**: dez mandamentos para o sucesso no controle da doença. Araraquara, SP: Fundecitrus. 63 p.

Bartlett, M.S. 1937. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society London A** 160:268-282.

Beglyarov, G.A., Smetnik, A.I. 1977. Seasonal colonization of entomophages in the USSR. In: Ridgway R (Ed.). **Biological control by augmentation of natural enemies**. Boston: Springer. p. 283-328.

Beloti, V.H., Alves, G.R., Moral, R.A., Demétrio, C.G.B.D., Yamamoto, P.T. 2018. Acute toxicity of fresh and aged residues of pesticides to the parasitoid *Tamarixia radiata* and to the HLB-Bacteria Vector *Diaphorina citri*. **Neotropical Entomology** 47:403-411.

Bergamin-Filho, A., Inoue-Nagata, A.K., Bassanezi, R.B., Belasque Júnior, J., Amorin, L., Macedo, M.A., Barbosa, J.C., Willocquet, L., Savary, S. 2016. The importance of primary inoculum and area-wide disease management to crop health and food security. **Food Security** 8:221-238.

Biever, K.D. 1972. Effect of the temperature on rate of search by *Trichogramma* and its potential application in field releases. **Environmental Entomology** 1:194-197.

Botelho P.M. 1997. Eficiência de *Trichogramma* em campo. In: Parra, J.R.P.; Zucchi, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq. p. 303-318.

Bové, J.M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. **Journal of Plant Pathology** 88:7-37.

Capoor, S.P., Rao, D.G., Viswanath, S.M., 1967. *Diaphorina citri* Kuwayama, a vector of the greening disease of citrus in India. **Indian Journal of Agricultural Science** 37:572-576.

Chien, C.-C., Chu, Y.-I. 1996. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. **International Journal of Pest Management** 34:93-105.

Coletta-Filho, H.D., Targon, M.L.P.N., Takita, M.A., De Negri, J.D., Pompeu Junior, J., Machado, M.A. 2004. First report of the causal agent of Huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”) in Brazil. **Plant Disease** 88:1382.

Diniz, A.J.F. 2013a. 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. 128 f. **Tese de Doutorado**. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Diniz, A.J.F. 2013b. Capacidade de dispersão de *Tamarixia radiata* Waterston, 1922 (Hymenoptera: Eulophidae) em citros. Anais. **13º Simpósio de Controle Biológico**. Bonito.

Dobzhansky, T., Wright, S. 1943. Genetics of natural populations x Dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics** 28:304-340.

FNP Consultoria e Comércio. 2016. Agriannual 2016: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo. 456 p.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2017. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/midia>>. Acesso em: 19 abr. 2017.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2018. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/midia>>. Acesso em: 20 abr. 2017.

Fundo de Defesa da Citricultura. 2019. Disponível em: <<http://www.fundecitrus.com.br/comunicacao/midia>>. Acesso em: 22 abr. 2019.

Golden Software. 1999. **Surfer**, version 7.0, Conjunto de programas. 1 CD-Rom e manuais. Informações em: <<http://www.goldensoftware.com>>. Acesso em: 21 ago. 2019.

Gómez-Torres, M.L., Nava, D.E., Gravena, S., Costa, V.A., Parra, J.R.P. 2006. Primeiro registro de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) em *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) no Brasil. **Revista de Agricultura** 81(9):112-117.

Gómez-Torres, M.L., Nava, D.E., Parra, J.R.P. 2012. Life table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures. **Journal of Economic Entomology** 105:338-343.

Gómez-Torres, M.L., Nava, D.E., Parra, J.R.P. 2014. Thermal hygrometric requirements for the rearing and release of *Tamarixia radiata* (Waterston)(Hymenoptera, Eulophidae). **Revista Brasileira de Entomologia** 58:291-295.

Gontijo, L.M., Margolies, D.C., Nechols, J.R., Cloyd, R.A. 2010. Plant architecture, prey distribution and predator release strategy interact to affect foraging efficiency of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on cucumber. **Biological Control** 53:136-141.

Gottwald, T.R. 2010. Current epidemiological understanding of citrus huanglongbing. **Annual Review of Phytopathology** 48:119-39.

Hall, D.G., Setamou M., Mizell, M.F. 2010. A comparison of sticky traps for monitoring Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). **Crop Protection** 29:1341-1346.

Hopper, K.R., Roush, R.T. 1993. Mate finding, dispersal, number released, and the success of biological control introductions. **Ecological Entomology** 18:321-331.

Hoy, M.A., Nguyen, R. 2001. Classical biological control of Asian citrus psylla. **Citrus industry** 81:48-50.

Kanour Junior, W.W., Burbulis, P.P. 1984. *Trichogramma* nubilale (Hymenoptera: Trichogrammatidae) field releases in corn and hypothetical model for control of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Economic Entomology** 77:(1)103-107.

Kareiva, P. 1982. Exclusion experiments and the competitive release of insects feeding on collards. **Ecology** 63:690-704.

Li L-Y. 1984. Research and utilization of *Trichogramma*. **Proceedings of the Chinese Academy of Sciences and United States National Academy of Sciences Joint Symposium on Biological Control of Insects**. Beijing. p. 204-223.

McDougall S.J., Mills N.J. 1997. Dispersal of *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hym., Trichogrammatidae) from point-source releases in an apple orchard in California. **Journal Applied of Entomology** 121:205-209.

Nava, D.E., Gómez-Torres, M.L., Rodrigues, M.D.L., Bento, J.M.S., Haddad, M.L., Parra, J.R.P. 2010. The effects of host, geographic origin, and gender on the thermal requirements of *Diaphorina Citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Environmental Entomology** 39:678-684.

Parra, J.R.P., Alves, G.R., Diniz, A.J.F., Vieira, J.M. 2016. (Hymenoptera: Eulophidae) × (Hemiptera: Liviidae): mass rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management** 7:5-11.

Prezotti, L., Parra, J.R.P. 2002. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores. In: Parra, J.R.P.; Botelho, P.S.M; Correa-Ferreira, B.S.; Bento, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole. p. 295-311.

R Development Core Team. 2018. **R: a language and environment for statistical computing**. A Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Sagarpa. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calida Agroalimentaria. 2014. **Manual de reproducción masiva de *Tamarixia radiata***: principal parasitoide del psílido asiático, vector del HLB de los cítrico. 3. ed. Ciudad de México: Delegación Coyoacán. 47 p.

Shapiro, S.S., Wilk, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika** 52:591-611.

Teixeira, D.C., Danet, J.L., Eveillard, S., Martins, E.C., Jesus Junior, W.C., Yamamoto, P.T., Lopes, S.A., Bassanezi, R.B., Ayres, A.J., Saillard, C., Bové, J.M. 2005. Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the ‘*Candidatus*’ Liberibacter species associated with the disease. **Molecular and Cellular Probes** 19:173-179.

Tomaseto, A.F. 2012. Capacidade de dispersão de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). 78 f. **Dissertação de Mestrado**. Piracicaba, SP: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

Vinson, S.B. 1991. Chemical signals used by parasitoids. **Redia**: giornale di entomologia 124:15-42.

Yamamoto, P.T., Felipe, M.R., Garbim, L.F., Coelho, J.H.C, Ximenes, N.L., Martins, E.C., Leite, A.P.R., Sousa, M.C., Abrahão, D.P., Braz, J.D. 2006. *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium Candidatus *Liberibacter americanus*. **Proceedings of the Huanglongbing-greening International Workshop**. Ribeirão Preto. p. 96.