

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"
DEPARTAMENTO DE ENTOMOLOGIA E ACAROLOGIA

0111000 – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM
ENGENHARIA AGRONÔMICA

LAÍSY ALBERTI BERTANHA

**SOBREVIVÊNCIA DE ADULTOS DE *TAMARIXIA RADIATA* (WATERSTON, 1922)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) ARMAZENADOS EM BAIXAS
TEMPERATURAS**

PIRACICABA
2018

LAÍSY ALBERTI BERTANHA

**SOBREVIVÊNCIA DE ADULTOS DE *TAMARIXIA RADIATA* (WATERSTON, 1922)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) ARMAZENADOS EM BAIXAS
TEMPERATURAS**

ORIENTADOR:
Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO POSTALI PARRA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, para
obtenção do título de bacharel em
Engenharia Agrônômica.

PIRACICABA
2018

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Deus por mais esta realização e por ter me sustentado até aqui, sem o Seu cuidado nada disso seria possível.

À minha querida mãe Mirtes que empenhou sua vida e seus esforços para que eu pudesse estudar e estar na faculdade. Dedico essa conquista a ela.

À minha amável avó Eva e ao meu pai Antônio Carlos, que me apoiaram durante esses anos.

À memória de minha irmã Bruna, por seu amor incondicional que tanto me incentivou e se alegrou quando ingressei na ESALQ.

Ao Prof. Dr. José Roberto Postali Parra pelos ensinamentos, dedicação e confiança, na orientação deste trabalho, e da minha vida acadêmica e profissional.

Ao Dr. Alexandre José Ferreira Diniz e Me. Fernanda Polastre Pereira, por toda atenção durante esses anos, e em especial pela orientação e ajuda durante a elaboração, avaliação dos experimentos e análise dos resultados.

Ao Fundecitrus pela concessão de bolsa para elaboração deste trabalho.

RESUMO

O Huanglongbing (HLB), ou greening, é a mais importante e destrutiva doença da citricultura mundial, cujo vetor, no Brasil, é o psílídeo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae), responsável por transmitir as bactérias causadoras da doença. O controle biológico está entre os métodos de manejo da praga (MIP), no qual o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) é utilizado. O trabalho teve por objetivo avaliar a sobrevivência de adultos de *T. radiata* quando armazenados em baixas temperaturas. Adultos de *T. radiata* com até 24 horas após a emergência, foram acondicionados, individualmente, em tubos de ensaio de vidro (12x75 mm, diâmetro, comprimento) com uma gota de solução de mel e pólen (2:1) como fonte de alimento. Os tubos foram colocados em câmaras climatizadas reguladas em três diferentes temperaturas (a partir do limiar térmico de desenvolvimento) 7, 9 e 11°C e oito períodos 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias. Para cada combinação de temperatura/período, foram colocados 10 insetos, com 3 repetições. Após cada período, foi avaliada a mortalidade dos insetos; os sobreviventes foram transferidos para câmaras climatizadas reguladas à temperatura de 25°C e fotofase de 14 h, e avaliada a sua longevidade. Os dados de sobrevivência no armazenamento foram submetidos à análise de variância, e aqueles dos sobreviventes a 25°C, usados para elaborar a curva de sobrevivência. Não foram verificadas diferenças na sobrevivência entre os tempos para as temperaturas de 9°C e 11°C; para temperatura de 7°C foram observadas diferenças significativas com redução não linear da sobrevivência ao longo do tempo de armazenamento. A média de sobrevivência independente do tempo foi menor para 7°C (37,10%) em relação a 9°C e 11°C que não diferiram entre si (72,93 e 73,74%, respectivamente). Para sobrevivência pós armazenamento não foram verificadas diferenças nas temperaturas de 9°C e 11°C entre os tempos testados, diferenças foram observadas apenas no pós armazenamento a 7°C. De acordo com os resultados pode-se sugerir uma temperatura de armazenamento entre 7°C e 9°C e um tempo ideal de armazenamento de até 4 dias. Os resultados fornecem informações que podem permitir uma otimização do uso deste parasitoide para liberações em programas de controle biológico do psílídeo dos citros.

Palavras-chave: Armazenamento, *Tamarixia radiata*, baixas temperaturas.

SUMÁRIO

RESUMO	4
INTRODUÇÃO	6
1. OBJETIVO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1. A DOENÇA: HLB OU GREENING.....	8
2.3. <i>DIAPHORINA CITRI</i>	9
2.4. <i>TAMARIXIA RADIATA</i>	11
2.5. ARMAZENAMENTO DE INSETOS.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5. CONCLUSÕES	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

INTRODUÇÃO

O huanglongbing (HLB), ou greening, é a mais importante e destrutiva doença da citricultura mundial (BOVÉ, 2006), causado por um grupo de bactérias *Candidatus Liberibacter* transmitidas, no Brasil, pelo psílideo *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Liviidae) (GOTTWALD et al., 2007). Presente já há várias décadas nos continentes asiático e africano, essa doença foi detectada nos dois maiores produtores mundiais de suco de laranja, São Paulo - SP (Brasil) e Flórida (EUA), nos anos 2004 e 2005, respectivamente (COLLETA-FILHO et al., 2004).

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja doce e de suco de laranja, e seu sistema agroindustrial citrícola, está fortemente concentrado no estado de São Paulo, possuindo aproximadamente 200 milhões de plantas (laranjeiras doce) presentes em cerca de 650.000 ha. São Paulo e Flórida dominavam a oferta mundial dessa *commodity* agrícola (NEVES et al., 2007), pois hoje a Flórida perdeu essa hegemonia, principalmente devido às consequências da doença.

Segundo Belasque Jr. et al. (2010), o agronegócio citrícola exporta, aproximadamente US\$ 1,5 bilhão anualmente, na forma de suco de laranja e gera mais de 400 mil empregos diretos e indiretos. O HLB é o desafio vivido atualmente, por colocar em risco a citricultura como exportadora desta *commodity*, tanto no Brasil quanto na Flórida, devido aos danos que causa e pela dificuldade do seu manejo.

A doença avança de maneira muito rápida, reduzindo a produtividade e elevando os custos de produção. Desde seu primeiro registro até 2015, cerca de 44,2 milhões de plantas foram eliminadas no estado de São Paulo (CDA, 2016).

Não há métodos de controle curativos para o HLB que possam ser usados em pomares comerciais. Desta forma, prevenir a infecção das plantas é fundamental no controle da doença. A poda de ramos sintomáticos e assintomáticos foi testada como uma medida de controle, mostrando-se ineficaz (LOPES et al., 2007). As tentativas de controle com a injeção de antibióticos (tetraciclinas) também se mostraram insatisfatórios (BOVÉ, 2006), e uma vez interrompido o tratamento com antibiótico os sintomas reapareceram, ou seja, as plantas continuavam doentes (BELASQUE JR et al., 2010).

Atualmente, o controle preconizado envolve o plantio de mudas saudáveis, a eliminação de plantas doentes e o controle de *D. citri*. Assim, o manejo do HLB tem como fundamento a prevenção de novas infecções em plantas ainda saudáveis, ou seja,

baseia-se na redução do inóculo, presente em plantas e insetos vetores (BELASQUE JR et al., 2010). A inspeção para o manejo de HLB é de suma importância, visando à identificação das plantas doentes e erradicação da fonte de inóculo. No Estado de São Paulo, as inspeções comumente são realizadas nas propriedades por inspetores caminhando a pé ao lado das plantas e em plataformas de inspeção acopladas em tratores (DADAZIO et al., 2018). A Fundecitrus traz 10 procedimentos, chamados “10 mandamentos” que envolvem ações internas e externas do pomar para o controle do HLB (FUNDECITRUS, 2018).

O controle biológico está entre os métodos de controle de *D. citri*, no qual o parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) é utilizado. Este parasitoide é considerado o principal inimigo natural do psíldeo por sua alta eficiência no parasitismo, capacidade de dispersão, estabelecimento e adaptação em campo (HODDLE; PANDEY, 2014). Parra et al. (2010), concluíram que *T. radiata* pode ser utilizado como agente de controle biológico de *D. citri*, como um componente adicional ao manejo integrado de pragas (MIP) em citros.

Devido à crescente importância da *T. radiata* no controle da *D. citri*, é de primordial importância conhecer e proporcionar as melhores condições para sua sobrevivência e parasitismo. Informações que permitam o transporte desse parasitoide das biofábricas até o campo para a liberação, com a mínima taxa de mortalidade, tornam-se demandas para um controle mais efetivo e rentável.

1. OBJETIVO

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito do armazenamento de adultos de *Tamarixia radiata* em baixas temperaturas sobre sua sobrevivência, para determinação das condições de armazenamento que proporcionam a melhor taxa de sobrevivência para os insetos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A DOENÇA: HLB OU GREENING

O huanglongbing (HLB), também conhecida como *greening*, é uma doença relacionada a patógenos colonizadores de floema. Atualmente são associadas à doença três bactérias e um fitoplasma (TEIXEIRA et al. 2010). As bactérias são: “*Candidatus Liberibacter africanus*”, “*Candidatus Liberibacter asiaticus*”, “*Candidatus Liberibacter americanus*” e o fitoplasma pertence ao grupo 16 SrDNA-IX (TEIXEIRA et al. 2008), sendo a primeira presente apenas no continente africano e as duas últimas presentes no Brasil.

Dentre os vetores existem as espécies *Trioza erytreae* (Del Guercio 1918) (Hemiptera: Triozidae), *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Liviidae) e *Cacopsylla citrisuga* (Yang e Li 1984) (Hemiptera: Psyllidae), esse último, confirmado como vetor de “*Ca. L. asiaticus*” apenas na China (CEN et al., 2012).

O HLB faz com que as plantas fiquem debilitadas e improdutivas, com o passar dos anos, não causando a morte direta das mesmas. Pomares inteiros podem tornar-se inviáveis economicamente entre sete e dez anos após o aparecimento da primeira planta sintomática, caso medidas de controle não sejam adotadas, já em pomares jovens, de até quatro anos, a inviabilidade econômica surge em até cinco anos. (GOTTWALD et al., 2007).

Os primeiros relatos da doença, ainda sem identificá-la, foram no começo do século passado na China, tendo sido relatada na África nos anos 40. No Brasil, embora o vetor tivesse sido identificado há mais de 70 anos (COSTA LIMA, 1943) a doença só foi detectada em 2004 (TEIXEIRA et al, 2005) e nos EUA no ano seguinte.

Segundo Belasque JR et al (2009), em ramos sintomáticos as folhas podem apresentar-se curvadas com nervuras escurecidas, mais grossas e com aspecto corticoso e de tamanho reduzido. A desfolha e morte de ponteiros da planta podem ocorrer em estádios mais avançados da doença.

Os frutos apresentam maturação irregular, permanecendo verdes, desenvolvimento assimétrico, aborto de sementes e ainda ocorre redução do grau Brix que compromete o rendimento na indústria (FUNDECITRUS, 2009, BELASQUE JUNIOR et al., 2009).

O manejo do HLB se baseia na utilização de mudas de citros sadias, produzidas em viveiros protegidos, erradicação de plantas que manifestarem os sintomas da doença e, principalmente, no controle do inseto vetor, que vem sendo realizado principalmente com utilização de agroquímicos (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018).

Outra medida recomendada é a eliminação das plantas que servem como hospedeiras da bactéria e do vetor, como as plantas de murta, murta-de-cheiro ou falsa-murta (*Murraya paniculata*), independentemente de estarem infectadas ou de sua localização (BELASQUE JUNIOR et al. 2010).

2.3. DIAPHORINA CITRI

Também conhecido como psílideo-asiático-dos-citros, *D. citri* é um inseto pequeno, que adulto mede aproximadamente de 2,8 a 3,2 mm de comprimento, e quando jovens apresentam coloração marrom claro, tornando-se escuros com o passar do tempo (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018).

Os ovos são depositados nas gemas recém brotadas, medem aproximadamente 0,3mm de comprimento, são alongados em forma de gota e de coloração amarela. O número de ovos depende da planta hospedeira e do estágio da brotação da planta. Em plantas de murta (*Murraya paniculata*) uma fêmea pode colocar mais de 600 ovos (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018).

A fase ninfal possui cinco ínstares, apresentam coloração amarelada e seu tamanho varia de 0,25 a 1,5 mm do primeiro ao quinto instar, respectivamente. As ninfas desenvolvem-se de forma sincronizada com o crescimento dos ramos (PANDE 1971).

Os adultos são frequentemente associados aos ramos em crescimento, podendo também se alimentar de folhas maduras. A disponibilidade de brotações é

um fator limitante na oviposição e incremento populacional de *D. citri*. (PARRA et al., 2010).

O hábito alimentar do inseto é sugador, se alimentando da seiva da planta, com isso, por serem tenros, os tecidos preferidos para a alimentação são os novos (brotações das plantas), e é onde os insetos permanecem praticamente imóveis (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018).

Assim como em outros insetos, a duração do ciclo biológico de *D. citri* varia de acordo com a temperatura, podendo ser de 12 a mais de 40 dias de acordo com a temperatura do ambiente. Aquelas mais elevadas podem prejudicar o desenvolvimento e favorecer a mortalidade do inseto. A umidade relativa do ar (UR) interfere ainda na sobrevivência do inseto, observando-se melhor desenvolvimento em UR superiores a 50% (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018). Temperaturas acima dos 30°C são danosas ao psílídeo, tendo sido registrado que a 32°C a mortalidade alcança quase 90% (Tabela 1).

Além das condições ambientais, o tipo de hospedeiro sobre o qual o inseto se desenvolve pode afetar sua sobrevivência, verificando-se que algumas variedades de *Citrus* são menos favoráveis para *D. citri*. (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018). Segundo ALVES, DINIZ & PARRA (2014), ocorrem diferenças entre as variedades de uma mesma espécie dentro do gênero; eles verificaram que a maior viabilidade de ovos é registrada em plantas de murta (85,7%) e Valência (83,3%), e a menor em Hamlin (56,8%). Já a viabilidade do estágio ninfal variou de 57,4 a 79,1%, sem diferenças estatísticas entre os diferentes grupos. Com relação aos hospedeiros que forneceram as melhores condições para o desenvolvimento de *D. citri* foram a Valência e a murta; sobre estes, *D. citri* mostrou a mais alta sobrevivência total, 65,9 e 64,2%, respectivamente. Contudo, esses dois hospedeiros diferiam estatisticamente apenas Hamlin, que teve a menor viabilidade total (32,6%) e é, portanto, a variedade menos favorável para o inseto.

O tamanho das brotações também influencia na oviposição e alimentação de *D. citri*. Diniz (2013) verificou que brotações de 1,0 e 2,6 cm foram preferidas para a oviposição. Já para alimentação, os adultos apresentam preferência por brotações maiores, com tamanho médio de 4,3 cm de comprimento.

O psílídeo causa danos diretos que são pouco relevantes, como o encarquilhamento de brotações nas quais se desenvolvem. Por outro lado, seu dano indireto (transmissão do HLB) é o mais importante (PARRA; DINIZ; ALVES, 2018).

O controle da praga é realizado atualmente de forma prioritária por meio da aplicação de inseticidas químicos; no entanto em um contexto de Manejo Integrado de Pragas diversas outras estratégias vêm sendo buscadas, como plantas iscas (BELOTI et al, 2017), armadilhas de feromônio (ZANARDI et al, 2017) e controle biológico que vem sendo utilizado com liberações do parasitoide *Tamarixia radiata* em áreas de pomares abandonados, orgânicos e bairros rurais com presença de murta (*Murraya paniculata*) (PARRA et al, 2016).

2.4. TAMARIXIA RADIATA

T. radiata é um ectoparasitoide idiobionte nativo da Índia e específico de *D. citri* (CHIEN, 1995). Sua utilização, para o controle desse inseto, tem se mostrado promissora em diversas regiões ao redor do mundo, incluindo o Brasil (PARRA et al, 2016).

É conhecido principalmente devido ao sucesso nas Ilhas Reunião em 1978 e em Guadalupe em 1999, com liberações de 4.600 e de 1000 adultos, em ambos os locais, respectivamente (ÉTIENNE et al, 2001). Uma pesquisa realizada na Ilha Reunião mostrou que *T. radiata* parasitou cerca de 70% das ninfas de psíldeos (AUBERT, 1987).

Os adultos de *T. radiata* são pequenos himenópteros de coloração escura, medindo de 0,92 a 1,04 mm de comprimento, com asas hialinas e de venação amarelada. O dimorfismo sexual é facilmente observado: os machos são menores do que as fêmeas, tanto no comprimento quanto na envergadura das asas, porém suas antenas são cerca de 1,5 vezes maiores do que as das fêmeas (ONAGBOLA et al., 2009). A diferenciação entre os sexos do parasitoide pode ser feita pelas características das antenas e do final do abdome; fêmeas possuem antenas curtas e sem pilosidade e também seu abdome é largo e com presença evidente do ovipositor, o macho, por outro lado, possui antenas longas cobertas de pêlos, abdome estreito e mais escuro (Figura 1) (PARRA et al., 2017).

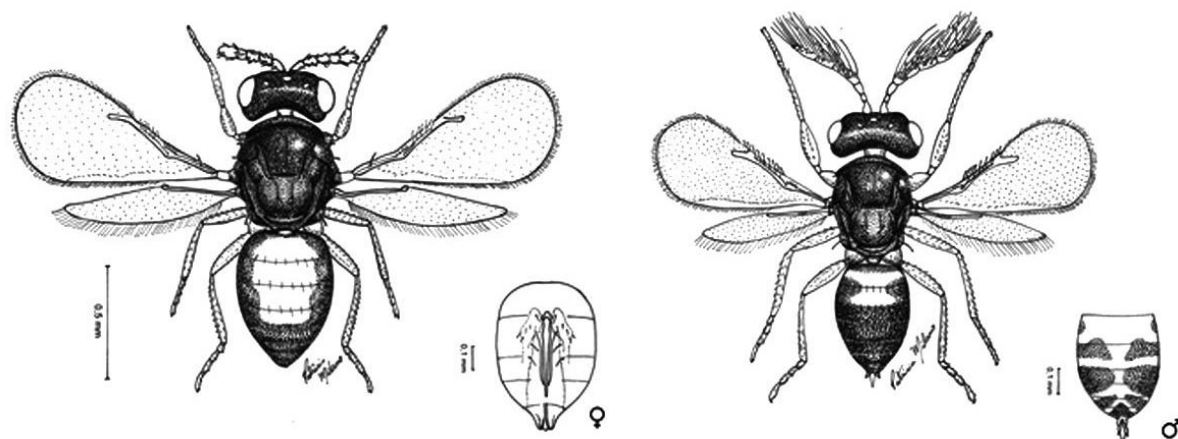


Figura 1. Fêmeas e machos de *Tamarixia radiata*, nos quais podem ser observadas características usadas na diferenciação sexual, aspecto das antenas e região final do abdome. Fonte: PARRA et al. 2016.

As fêmeas do parasitoide colocam um ou, no máximo dois ovos na face ventral das ninfas do psílídeo, entre o terceiro par de pernas (Figura 2A), porém somente uma larva se desenvolve. Quando eclode a larva passa a se alimentar da hemolinfa do hospedeiro, matando-o (Figura 2B). Ao final dessa fase, o parasitoide fixa os restos da ninfa à planta para criar uma proteção sob a qual possa pupar (Figura 2C-E) (HOY et al., 1999).

A ninfa do psílídeo se torna escura à medida que o parasitoide se desenvolve, e seca ao final do processo, adquirindo aspecto “mumificado”. Quando completa essa fase, o adulto de *T. radiata* perfura a região anterior da ninfa criando uma abertura para poder sair, sendo este orifício facilmente visualizado, um indicativo da sua ação nos pomares (Figura 2F) (ÉTIENNE et al, 2001).

Alguns fatores podem influenciar o parasitismo de *T. radiata*, como o estágio de desenvolvimento do hospedeiro. *T. radiata* podem se alimentar de ninfas de 1º, 2º e 3º ínstars de *D. citri*, entretanto, o parasitismo ocorre preferencialmente em ninfas de 4º e 5º ínstars conforme registrado por Chu e Chien (1991).

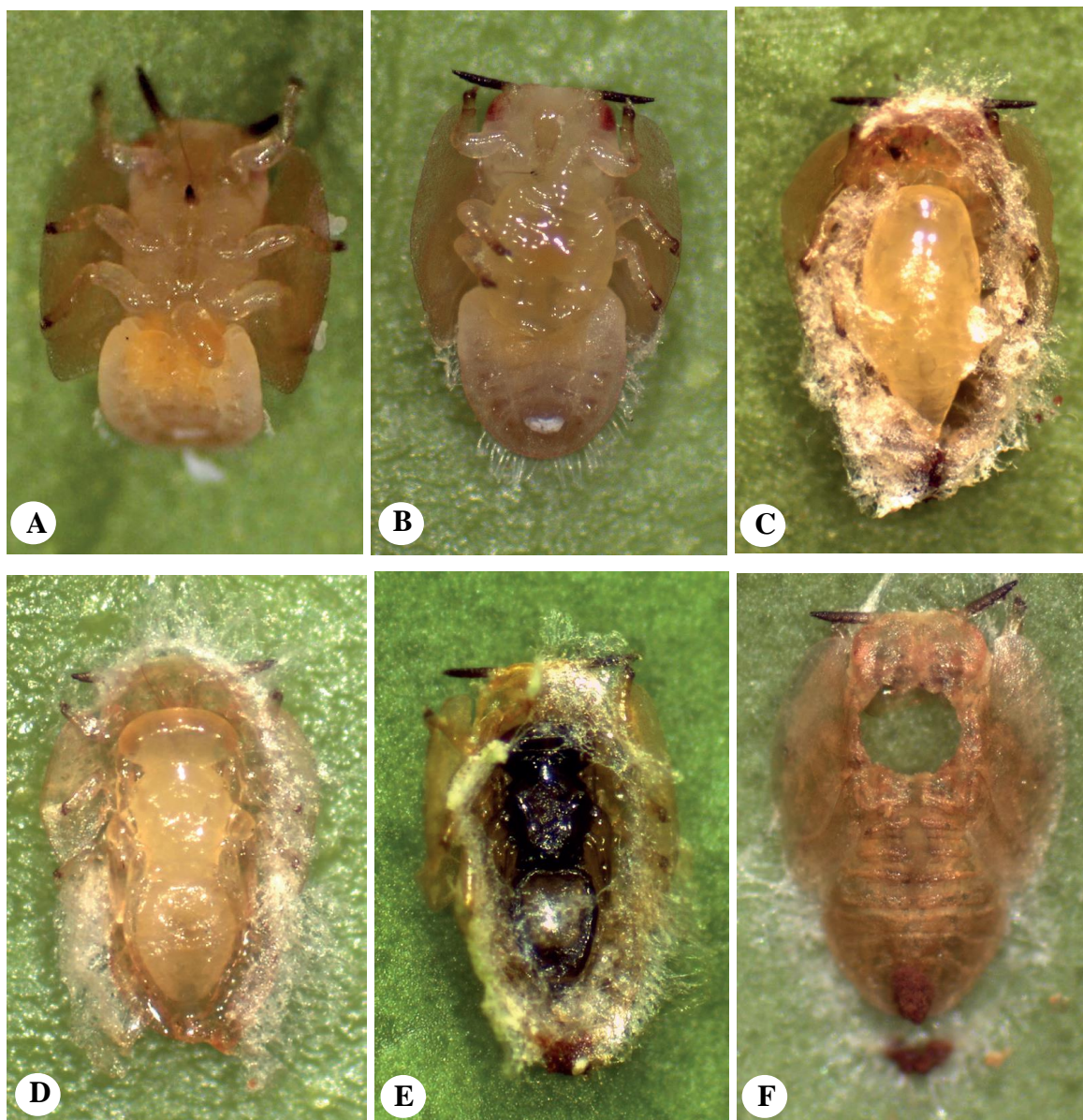


Figura 2. Fases do desenvolvimento de *Tamarixia radiata* em ninfas de *Diaphorina citri*: A) ovo de *T. radiata* no terceiro par de pernas de ninfa de *D. citri*; B-C) larva de *T. radiata* em dois tamanhos; D-E) pré-pupa e pupa de *T. radiata*; F) múmia de *D. citri* com orifício de emergência característico do adulto de *T. radiata*. Fonte: PARRA et al., 2016.

Das ações combinadas de destruição por alimentação e por parasitismo, acredita-se que uma única fêmea do parasitoide possa, ao longo da vida, eliminar 500 ninfas do psílídeo (CHIEN; CHU, 1996). Segundo Hoy e Nguyen (2001), a predação das fases iniciais de *D. citri* representa uma importante fonte protéica para a maturação dos ovos do parasitoide.

Além do estágio de desenvolvimento, a temperatura é outro fator a ser considerado para *T. radiata*. A temperatura base (T_b) ou limiar térmico inferior de desenvolvimento é aquela na qual o inseto tem metabolismo muito baixo e

“praticamente” interrompe seu desenvolvimento, e a constante térmica (K), a quantidade de energia térmica que a espécie necessita para completar o desenvolvimento, dada em graus-dia (GD). Gómez-Torres (2009), obteve esses parâmetros para *T. radiata*, e foram de 7,1°C para temperatura base e 188,7 GD para constante térmica.

Através de estudos da biologia de *T. radiata* em diferentes temperaturas, conclui-se que tempo médio de desenvolvimento biológico do parasitoide pode variar entre 10,43 e 20,32 dias em uma faixa de temperatura de 15°C a 35°C (GÓMEZ-TORRES et al., 2012).

Segundo Gómez-Torres et al. (2009), a temperatura não afeta a razão sexual, mas afeta a capacidade total de parasitismo da *T. radiata*, que é maior a 25°C (167 ninfas parasitadas), embora o total de ninfas parasitadas tenha sido bem inferior ao referido na literatura (CHU & CHIEN, 1991), com registros de 500 ninfas destruídas pelo parasitoide.

Com relação à planta hospedeira, houve uma variação na taxa de parasitismo em função da variedade de citros infestada, observando-se maior porcentual na variedade Hamlin (35,6%), seguida pela Pêra (19,2%), Valência (8,6%) e Natal (7,3%) (PAIVA, 2009), em condições de laboratório por outro lado tal variação não foi confirmada por Alves et al (2016).

Os focos de contaminação de HLB, onde existem uma alta população de *D. citri*, não são os pomares comerciais, visto que nessas áreas ocorre uma alta, e por vezes, indiscriminada aplicação de produtos químicos, controlando a praga. Os insetos migram para as áreas comerciais, vindos de pomares de citros abandonados, áreas de murta, locais onde não se aplicam inseticidas, áreas orgânicas de citros ou mesmo pomares domésticos. Assim, uma nova estratégia de controle biológico foi desenvolvida a partir de um projeto da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) em parceria com o Fundo de Defesa da Citricultura (FUNDECITRUS) que prevê liberações de *T. radiata* nas áreas mencionadas para evitar os focos de contaminação de HLB (PARRA et al., 2016), levando em conta que *D. citri* pode migrar a até mais de 2.2 km dessas áreas para pomares comerciais e, portanto, transmitir a doença (FERREIRA, 2014).

Com base nas exigências térmicas e higrométricas de *D. citri* e de *T. radiata* foi elaborado o zoneamento para *T. radiata* por meio do Sistema de Informações Geográficas (SIG) nas regiões citrícolas do estado de São Paulo ao longo de um ano,

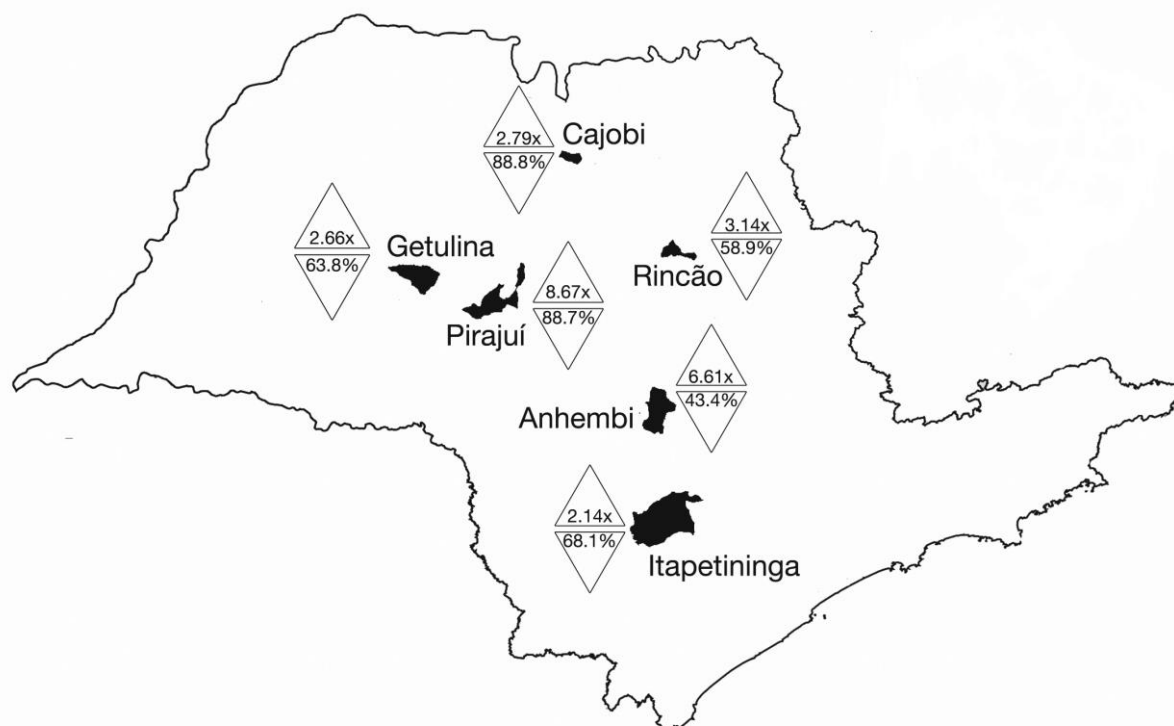


Figura 4. Municípios do estado de São Paulo nos quais foi realizada pela Esalq/USP a liberação de *T. radiata* para o controle de *D. citri*, nas principais regiões produtoras de citros, com as médias de aumento do parasitismo inicial (seta para cima) e de redução da população de ninfas da praga (seta para baixo), após oito liberações. Fonte: DINIZ, 2013.

2.5. ARMAZENAMENTO DE INSETOS

O avanço do controle biológico gerou a demanda de altas produções dos insetos benéficos usados nesses programas (van LENTEREN; TOMMASINI, 2002). Com isso um dos obstáculos a serem superados são grandes os picos de necessidade das liberações a campo, além do fato de que nem sempre é possível liberar os adultos assim que emergem, muitas vezes graças as grandes distancias entre as fazendas e as biofábricas, o que dificulta as mesmas a manterem uma produção regular e constante (HALL; KLEIN, 2014).

Diferente de produtos químicos, como inseticidas, a maioria dos insetos utilizados em controle biológico possuem um “tempo de prateleira” curto; sendo assim, precisam ser produzidos pouco antes das liberações. O desenvolvimento de métodos eficientes para o armazenamento desses insetos, visando prolongar o “tempo de prateleira”, traria grandes avanços para os programas de controle biológico e reduções no custo de produção, potencializando o uso dos mesmos (COLINET; BOIVIN, 2011).

Para reduzir o desenvolvimento ou a taxa metabólica dos insetos é possível submetê-los a baixas temperaturas, geralmente acima de 0°C. Essas baixas temperaturas têm provado ser um método valioso para a criação massal de insetos benéficos. Isso porque viabiliza o aumento do “tempo de prateleira” dos mesmos, e assim permite que haja um suprimento mais estável e constante no mercado para os programas de controle biológico, além de uma melhor sincronização entre o momento crítico de ataque das pragas no campo e a pronta liberação desses inimigos naturais (VENKATESAN et al., 2000).

Para prolongar o “tempo de prateleira” dos parasitoides, é possível armazená-los a temperaturas entre 0 e 15°C. Mesmo sob essas temperaturas moderadamente baixas, algumas espécies apresentam níveis de mortalidade. Geralmente, quanto mais baixa a temperatura de armazenamento maior a mortalidade (van LENTEREN; TOMMASINI, 2002). Contudo, em alguns casos a temperatura não tem efeito na sobrevivência (AL-TEMEMI; ASHFAQ, 2005).

A origem geográfica pode ter uma forte influência na tolerância ao frio dos insetos. Devido às específicas adaptações climáticas, espera-se que as espécies/populações de clima temperado sejam mais adaptadas a baixas temperaturas do que as espécies de clima tropical (GIBERT et al., 2001). Porém com a alta variabilidade natural entre espécies e populações, é preciso estudar de forma individual cada espécie para direcionar para quais são os parâmetros ideais relacionados ao armazenamento (COLINET; BOIVIN, 2011).

A temperatura é, seguramente, um dos principais fatores abióticos que afetam o armazenamento. Os protocolos que envolvem este método, indicam o uso de temperaturas específicas e determinam o limiar térmico inferior (T_b) de desenvolvimento (LEOPOLD, 2007). Em algumas espécies, as injúrias pela refrigeração se tornam letais devido ao não desenvolvimento abaixo do T_b . Contudo em outras espécies, ótimos resultados foram obtidos com esse tipo de armazenamento (COLINET; BOIVIN, 2011). Para viabilizar o armazenamento, a temperatura escolhida deve permitir um equilíbrio entre o necessário para diminuir a taxa metabólica e/ou desenvolvimento, com o risco do acúmulo de injúrias pelo frio (PITCHER et al., 2002).

Além da temperatura, a duração da exposição é outro componente essencial para a sobrevivência dos insetos ao frio. Kostal et al. (2004, 2006) definiram como dose de exposição ao frio, a combinação entre a duração da exposição e temperatura.

Ou seja, quando a temperatura diminui e/ou a duração da exposição aumenta, a dose de exposição ao frio aumenta, e quando excede o limite do acúmulo dessa injúria que o inseto pode suportar, torna-se progressivamente irreversível e eventualmente letal (COLINET; BOIVIN, 2011).

De acordo com van Lenterem; Tomasini, (2002) o armazenamento de insetos na fase adulta pode levar a uma redução de *fitness* muito mais intensa do que em insetos na fase imatura; no entanto, considerando-se que *T. radiata* precisa ser criada; sobre ninfas de *Diaphorina citri* sobre hospedeiro natural (plantas de murta) operacionalmente é muito mais fácil armazenar parasitoides adultos que em sua fase larval, o que justifica a avaliação aqui proposta.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliação dos efeitos do armazenamento sobre adultos os parasitoides foram criados de acordo com metodologia proposta por Diniz (2013). Os adultos de *Tamarixia radiata* com até 24 horas após terem emergido, foram acondicionados em tubos de ensaio de vidro de 6 ml, contendo uma gotícula de solução de mel e pólen (2:1) e tampados com filme de polietileno.

Os tubos com os insetos individualizados foram armazenados no escuro em câmaras climatizadas reguladas em três diferentes temperaturas 7, 9 e 11°C e oito períodos, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 16 dias, compondo deste modo um fatorial 3x8. Para combinação de dia e temperatura, foram estudadas 3 repetições com 10 insetos para cada uma, totalizando 30 insetos. Cada conjunto de 10 tubos com 1 inseto cada, era separado em um copo plástico, e caracterizava-se como uma repetição (Figura 5). Todas parcelas experimentais (conjuntos de 10 insetos) foram colocadas em uma caixa plástica, totalizando 24 copos, 240 insetos, em cada uma, sendo então transferidas para as câmaras reguladas às temperaturas propostas de 7, 9 e 11°C. No fundo de cada caixa foi colocado algodão umedecido mantendo a UR em cerca de 80%, e embaladas com saco plástico para evitar a entrada de luz (Figura 6).

A cada 2 dias, eram retirados 3 copos de cada temperatura, correspondentes ao tratamento. Foi feita a quantificação de insetos mortos e vivos. Aqueles sobreviventes foram transferidos para câmaras reguladas à temperatura de 25°C, fotofase de 14 h, e UR de 60%, e diariamente foi quantificado os insetos vivos e

mortos, até atingir a mortalidade de 100% dos insetos, com tais resultados foi feita a avaliação da longevidade pós-armazenamento.

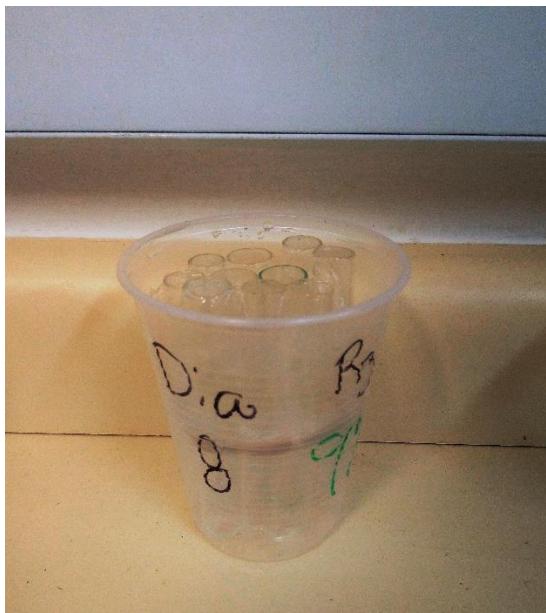


Figura 5. Copo plástico com 10 insetos individualizados em 10 tubos.



Figura 6. Cada caixa correspondia ao armazenamento em uma das 3 temperaturas. Foram embaladas com plástico preto, para diminuir a entrada de luz no momento da retirada dos copos nos diferentes períodos.

Os dados do teste foram submetidos à análise de sobrevivência no software R para determinação das condições de armazenamento que proporcionam a melhor taxa de sobrevivência.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sobrevivência do parasitoide em baixas temperaturas apresentou grande variabilidade dos resultados, principalmente a 7°C, na qual as taxas variaram de 90% aos dois dias até 0% aos quatorze dias, embora não de forma linear visto que aos dezesseis dias a sobrevivência foi ainda de 20% (Tabela 1). Este é o primeiro trabalho que avalia a sobrevivência de *T. radiata* a baixas temperaturas, Hall, Klein (2014) avaliaram a possibilidade de armazenamento, porém por quatro temperaturas que variaram de 15°C a 30°C e verificaram que houve uma redução da sobrevivência apenas na temperatura de 15°C, que aos quatorze dias foi reduzida para cerca de 70%.

Neste trabalho, na temperatura de 11°C (mais próxima da de 15°C do trabalho citado), foi verificada uma redução inexplicada para 13.3% aos quatorze dias, porém para todas as outras datas a sobrevivência variou de 60,0 a 96.7%, próximas daquelas obtidas por Hall, Klein (2014).

Insetos são animais pecilotérmicos, visto que sua temperatura corporal varia de acordo com a temperatura ambiental (SILVEIRA NETO et al, 1976); desse modo o uso do frio para prolongar seu tempo de vida é uma estratégia já bastante tempo explorada (LEOPOLD, 2007). Segundo Colinet; Boivin (2011) há necessidade de se encontrar um ponto de equilíbrio uma vez que o armazenamento a temperaturas não muito baixas pode não afetar seu metabolismo a ponto de se obterem os efeitos desejados (prolongar a vida do inseto), porém temperaturas muito baixas podem causar danos ao organismo, reduzindo sua longevidade. Neste trabalho não houve diferença na média de sobrevivência de *T. radiata* nas temperaturas de 9°C e 11°C que foram de 72,93 e 73,74% respectivamente, porém foi verificada uma redução significativa a 7°C que foi de 37,1% (Tabela 1); assim o ponto ideal de armazenamento para este parasitoide pode estar entre as temperaturas de 9°C e 7°C.

Segundo Pandey e Johnson (2005) o armazenamento de insetos a temperaturas próximas ou abaixo de sua temperatura base (T_b) pode afetar significativamente sua sobrevivência ou mesmo causar mortalidade total. A temperatura base é aquela no qual o metabolismo e o desenvolvimento do inseto virtualmente se paralisa (HADDAD et al, 1999). A redução da média de sobrevivência observada a 7°C pode ser devida a este fator, uma vez que segundo Gomez-Torres et al (2014) para *T. radiata*, a temperatura base (T_b) é de 7,13°C, e mesmo a

sobrevivência tendo sido baixa (37,10%) o parasitoide pôde sobreviver a temperatura menor que sua Tb. Corroborando também com Colinet; Boivin (2011), que encontraram que para algumas espécies as injúrias causadas pelo armazenamento abaixo da Tb podem não ser letais.

Tabela 1. Média de sobrevivência (%) de adultos de *Tamarixia radiata* armazenados em três temperaturas e por oito períodos. Médias seguidas na mesma linha por letra maiúscula e mesma coluna por letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Dias de armazenamento	Temperaturas de armazenamento (°C)		
	7°C	9°C	11°C
2	90.0 ± 5.8 aA	86.7 ± 8.8 aA	96.7 ± 3.3 aA
4	46.7 ± 14.5 aA	76.7 ± 8.8 aA	90.0 ± 5.8 aA
6	50.0 ± 15.3 aA	63.3 ± 12.0 aA	73.3 ± 8.8 aA
8	46.7 ± 8.8 aA	63.3 ± 16.7 aA	60.0 ± 11.5 aA
10	26.7 ± 6.7 bB	76.7 ± 8.8 aAB	80.0 ± 5.7 aA
12	16.7 ± 8.8 bcB	83.3 ± 3.3 aA	83.3 ± 6.7 aA
14	0.0 ± 0.0 cC	66.7 ± 6.7 aA	13.3 ± 3.3 bB
16	20.0 ± 11.5 bB	66.7 ± 6.7 aAB	93.3 ± 3.3 aA
Média geral	37.10 ± 9.77 B	72.93 ± 3.24 A	73.74 ± 9.59 A

Segundo Colinet; Boivin (2011) o tempo pode apresentar um efeito sinérgico com a redução da temperatura sobre a redução da sobrevivência que normalmente ocorre de forma linear com tempo dentro da mesma temperatura. Para as temperaturas aqui avaliadas de 9°C e 11°C parece não ter ocorrido esse efeito uma vez que não houve diferença significativa na sobrevivência entre os dias de armazenamento (Tabela 1); por outro lado para 7°C foi verificada uma redução a partir dos dez dias de armazenamento, porém ela não se mostrou linear visto que a sobrevivência aos dezesseis dias (20,0%) foi superior àquela verificada aos quatorze dias (nenhum indivíduo vivo), esta situação foi também verificada por Lysyk et al (2004) para parasitoides de moscas domésticas.

Segundo Colinet, et al (2006) baixa umidade relativa pode ser letal para os insetos durante o armazenamento a baixas temperaturas, no presente trabalho este não parece ter sido um fator afetando a sobrevivência visto que foi mantido algodão umedecido no fundo da caixa mantendo a UR em cerca de 80% (medida com Datalogger TinyTag Ultra 2).

Outro fator que pode afetar a sobrevivência dos insetos armazenados é a manipulação durante o teste, que pode causar injúrias ou aumentar a dessecação

(RIVERS et al, 2000); neste caso, o experimento foi planejado para que a avaliação de um período não afetasse os demais, evitando esse tipo de efeito.

Devido a dificuldade operacional do armazenamento de *T. radiata* na fase larval, o parasitoide foi avaliado na sua fase adulta quanto à sobrevivência em baixas temperaturas com objetivo final de otimizar a logística de criação e liberação em campo, por este motivo, sendo também avaliada a longevidade em pós armazenamento.

No pós armazenamento a 25°C a sobrevivência do parasitoide só foi afetada para aqueles oriundos do armazenamento a 7°C, não tendo sido verificadas diferenças de sobrevivência a 25°C dos insetos que haviam sido expostos às temperaturas de 9°C e 11°C (Figuras 7, 8, 9), assim como os resultados obtidos no armazenamento inicial.

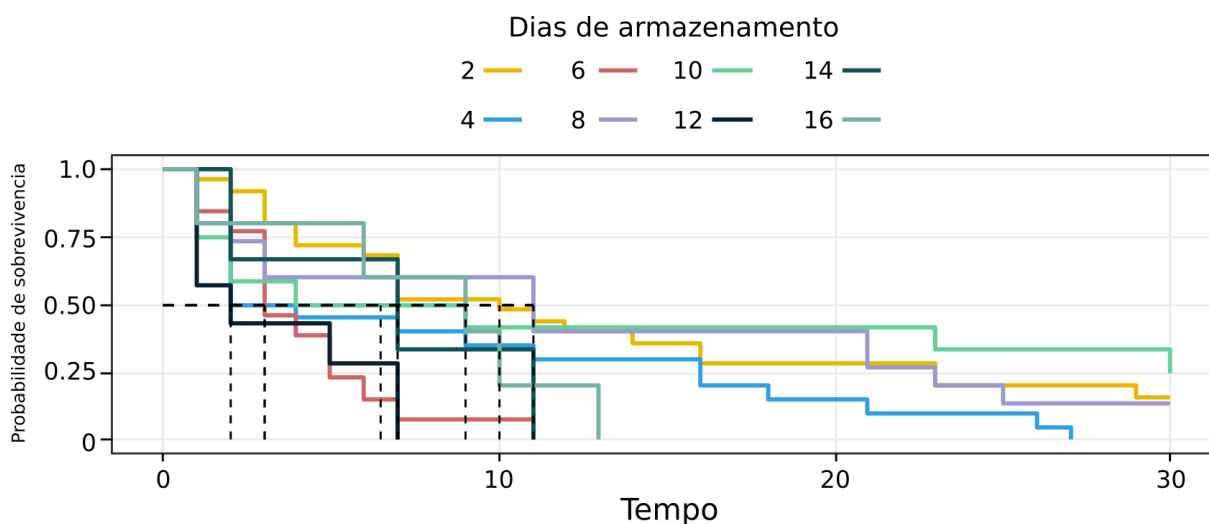


Figura 7. Curvas de sobrevivência de *Tamarixia radiata* (Hemiptera: Eulophidae) armazenadas por oito períodos (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 dias) em câmara climatizada mantida a 7°C ± 2°C, 70 ± 10% RH, alimentadas com solução de mel e pólen (1:1), escotofase 24h.

Segundo Gomez-Torres et al (2014) a longevidade média de *T. radiata* com oferta de alimento e hospedeiro é de cerca de 7 e 14 dias para insetos mantidos nessas condições a 15 e 25°C, respectivamente; porém, se considerarmos os parasitoides armazenados por 16 dias a 11°C sua longevidade se estende a quase 40 dias (16 de armazenamento inicial mais cerca de 20 dias de pós armazenamento a 25°C) (Tabela 1, Figura 9). De acordo com Chien, Chu, Ku (1994), *T. radiata* na ausência de hospedeiros reabsorve os ovos não utilizados aumentando desse modo sua longevidade, que pode alcançar quase 50 dias a 15°C segundo aqueles autores;

esse fenômeno pode ter ocorrido aqui também justificando deste modo a longevidade observada para os insetos, uma vez que não havia também a oferta de hospedeiros.

O pós armazenamento a 25°C mostrou uma diferença estatística entre os dias, sendo que os insetos que foram mantidos por mais tempo a 7°C, mostraram uma menor taxa de sobrevivência no pós armazenamento a 25°C. Os resultados corroboram com Colinet; Boivin (2011) que relataram que há uma dose de exposição ao frio, uma combinação entre a temperatura e a duração da exposição, e que se a temperatura for muito baixa e/ou exposição prolongada, o acúmulo de injúrias pelo resfriamento pode não ser reversível e até mesmo letal, como observado nos resultados do presente experimento.

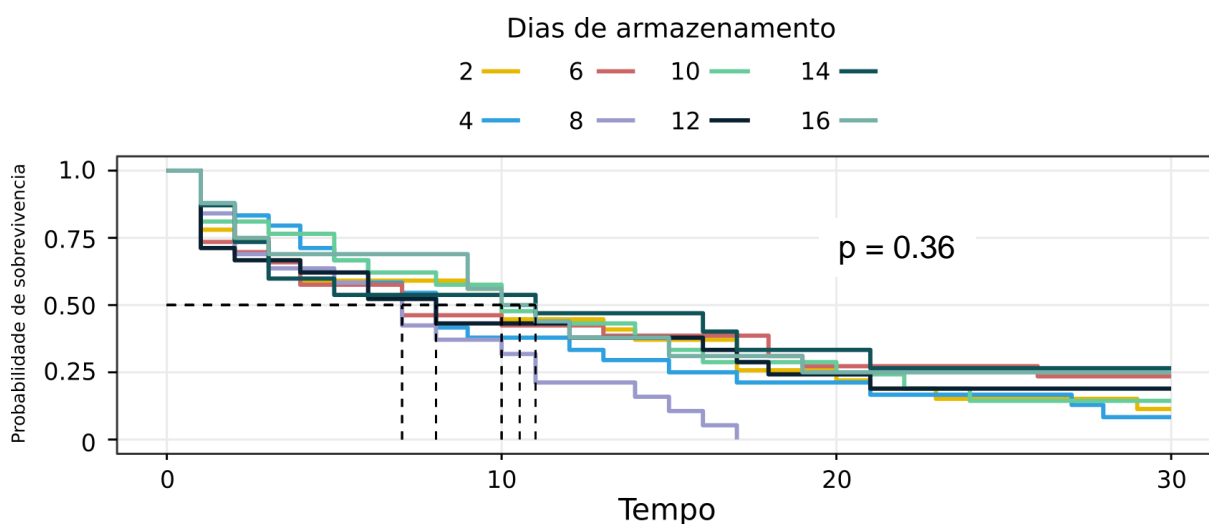


Figura 8. Curvas de sobrevivência de *Tamarixia radiata* (Hemiptera: Eulophidae) armazenadas por oito períodos (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 dias) em câmara climatizada mantida a $9^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ RH, alimentadas com solução de mel e pólen (1:1), escotofase 24h.

Na sobrevivência dos insetos no pós armazenamento das temperaturas de 9 e 11°C, não houve diferença estatística entre os dias, podendo ser resultado da proximidade com a temperatura de desenvolvimento da *Tamarixia radiata*; de acordo com Chien et al (1993) o parasitoide pode completar seu desenvolvimento entre 15 e 32°C, com temperatura ótima de 25°C. Com temperaturas mais próximas a 15°C, o acúmulo de frio não é tão expressivo e com isso os efeitos no pós armazenamento não são tão deletérios como a 7°C.

Uma menor mortalidade pode ser obtida no pós armazenamento quando a variação térmica entre o pré armazenamento e a temperatura de armazenamento for menor (SHALABY; RABASSE, 1979; SINGH; SRIVASTAVA, 1988). Antes do armazenamento os parasitoides recém emergidos estavam a 25°C, havendo uma

variação de 18°C para a menor temperatura (7°C), podendo representar um dos fundamentos pelo qual essa temperatura proporcionou a maior taxa de mortalidade no pós armazenamento.

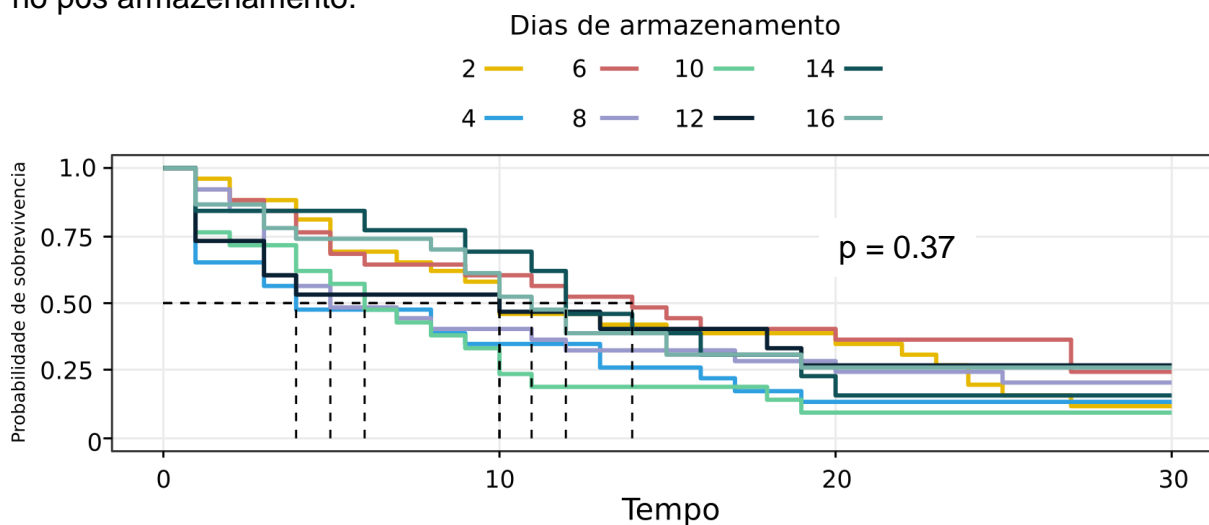


Figura 9. Curvas de sobrevivência de *Tamarixia radiata* (Hemiptera: Eulophidae) armazenadas por oito períodos (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 dias) em câmara climatizada mantida a $11^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $70 \pm 10\%$ RH, alimentadas com solução de mel e pólen (1:1), escotofase 24h.

Na média do pós armazenamento a 25°C , os insetos antes armazenados a 7°C levaram 3,2 dias para reduzir a população a metade, os que haviam sido armazenados a 9°C levaram em média 5,8 dias, e os antes armazenados a 11°C levaram 7,0 dias. A temperatura de 11°C foi a que menos afetou os insetos no pós armazenamento, indicando que o acúmulo de frio causado por essa temperatura foi o menos prejudicial para os parasitoides.

Tabela 2. Tempo médio de sobrevivência de 50% dos insetos (*Tamarixia radiata*) em função de diferentes tempos e temperaturas de armazenamento, mantidos no pós armazenamento a 25°C .

Tempo/ temperatura	7°C	9°C	11°C
Dois	6.7	3.4	7.9
Quatro	2.0	6.5	2.7
Seis	3.2	3.5	11.5
Oito	2.5	5.7	3.6
Dez	4.0	7.0	4.4
Doze	0.8	5.7	3.8
Quatorze	1.5	4.7	13.0
Dezesseis	5.0	10.0	9.6
Tempo médio (dias)	3.2	5.8	7.0

Segundo Venkatesan et al, (2000) o armazenamento de inimigos naturais é fundamental para se otimizar a logística operacional de programas de controle biológico com esses agentes. No contexto do Brasil a cadeia citrícola se expande por mais de 600.000 ha, dos quais pouco mais de 400.000 ha só no estado de São Paulo (SIDRA, 2018).

Atualmente o programa de controle biológico de *Diaphorina citri* com uso de *Tamarixia radiata* conta com 9 biofábricas que produzem quase 1.000.000 de parasitoides / mês. Muitas vezes não é possível realizar a liberação dos organismos produzidos no mesmo dia em função de questões operacionais, como distância ou até mesmo excedente produzido.

O tempo para redução da população a 50% foi de 3,2; 5.8 e 7.0 dias para as temperaturas de 7°C, 9°C e 11°C respectivamente; esses dados podem ajudar as biofábricas no planejamento do uso dos parasitoides produzidos.

Os resultados aqui obtidos contribuem para otimização do programa de controle biológico de *D. citri* com uso de *T. radiata*; no entanto os estudos, devem ter continuidade a fim de se avaliar se o armazenamento destes parasitoides pode afetar sua capacidade de busca e taxa de parasitismo, bem como poder-se-ia investigar a possibilidade de armazenamento de *T. radiata* ainda na fase de larva pois segundo a literatura é mais eficiente.

5. CONCLUSÕES

- O armazenamento de *Tamarixia radiata* não é afetado nas temperaturas de 9°C e 11°C nos períodos de 2 a 16 dias aqui avaliados;
- O armazenamento de *Tamarixia radiata* apresenta uma redução não linear da sobrevivência com o tempo exposto a temperatura de 7°C;
- A sobrevivência no pós armazenamento a 25°C não é afetada para os parasitoides oriundos do armazenamento a 9°C e 11°C;
- A temperatura ideal de armazenamento, de acordo com as condições testadas, deve estar na faixa de 7°C e 9°C;
- Considerando uma sobrevivência de mais de 90% o tempo ideal de armazenamento deve ser de no máximo 4 dias a 11°C e 9°C e 2 dias a 7°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-TEMEMI, N.K., ASHFAQ, M. Effect of low temperature storage on the fecundity and parasitizing efficacy of *Bracon hebetor* (Say). **Journal of Agrical Research**. v.43, p.155–160. 2005.
- ALVES, G.R.; DINIZ, A.J.F.; PARRA, J.R.P. Biology of the Huanglongbing Vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on Different Host Plants. **Journal Of Economic Entomology**, v.107, n.2, p.691-696. 2014.
- ALVES, G.R.; VIEIRA, J.M.; DINIZ, A.J.F.; PARRA, J.R.P. Can the Choice Behavior and Fitness of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) be Affected by the Citrus (Sapindales: Rutaceae) Variety Used to Rear the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Liviidae). **Florida Entomologist** v.99, n.2, p.281-285. 2016.
- AUBERT, B. *Trioza erytrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: Biological aspects and possible control strategies. **Fruits**, v.42, p.149–162. 1987.
- BELASQUE JUNIOR, J et al. Base científica para a erradicação de plantas sintomáticas e assintomáticas de Huanglongbing (HLB, Greening) visando o controle efetivo da doença. **Tropical Plant Pathology**. v. 34, n. 3, p.137-145. 2009.

BELASQUE JUNIOR, J; BASSANEZI, RB; YAMAMOTO, PT; AYRES, AJ; TACHIBANA, A; VIOLANTE, AR; TANK JUNIOR, A; DI GIORGI, F; TERSI, FEA; MENEZES, GM; DRAGONE, J; JANK JUNIOR, RH; BOVÉ, JM. Lesson from *huanglongbing* management in São Paulo State, Brazil. **Journal of Plant Pathology** v. 32, p.285-302. 2010.

BELOTI, V.H. ; SANTOS, F. ; ALVES, G.R. ; BENTO, J.M.S. ; YAMAMOTO, P.T. Curry leaf smells better than citrus to females of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). **Arthropod-Plant Interactions**, v.1, p.1-8. 2017.

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

CEN, Y; ZHANG, L; XIA, Y; GUO, J; DENG, X; ZHOU, W; SEQUEIRA, R; GAO, J; WANG, Z; YUE, J; GAO, Y. 2012. Detection of "*Candidatus Liberibacter Asiaticus*" in *Cacopsylla (Psylla) citrisuga* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**. v.95, n.2, p.304-311. 2012.

CHIEN C.C., CHU, Y.I., KU H.C. Oosorption and oviposition-regulating capability of the eulophid wasp, *Tamarixia radiata*, and its internal reproductive organs. **Plant Protection Bulletin**. v.36, p.19-30. 1994.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Pest Control in Systems of Integrated Pest Management – 1996. **Reprinted from Food and Fertilizer Technology Center Book Series No. 47**, Taipei, Taiwan, pp. 93-114. 1996.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I.; KU, S.C. Influence of temperature on the population increase, host killing capacity and the storage of the *Tamarixia radiata*. **China Insect**. v.13, p.111-123. 1993.

CHIEN, C.C. The role of parasitoids in the pest management of citrus psyllid. In: Symposium: research and development of citrus in taiwan,1995,Taichung. **Proceedings**. Taichung, p. 245-261. 1995.

CHIEN, C.C.; CHU, Y.I. Biological control of citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Control Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. **Food and Fertilizer Technology Center**, Taipei, n. 47, 21p. 1996.

CHU, Y.I.; CHIEN, C.C. Utilization of natural enemies to control of psyllid vectors transmitting citrus greening. In: KIRITANI, K.; SU, H.J.; CHU, Y.I. (Ed.). Integrated Control of Plant Virus Disease. **Taipei: Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region**, p.135-145.1991.

COLETTA-FILHO, H.D.; TARGON, M.L.P.; TAKITA, N.M.A.; DE NEGRI, J.D.; POMPEU, JR., J.; MACHADO, M.A.; AMARAL, A.M.; MULLER, G.W. First Report of the Causal Agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**. v.88, n.12, p.1382-1382. 2004.

COLINET, H.; HANCE, T.; VERNON, P. Water relations, fat reserves, survival, and longevity of a cold-exposed parasitic wasp *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Aphidiinae). **Environmental Entomology**. v.35, p.228–236. 2006.

COLINET, H.; BOIVIN, G. Insect parasitoids cold storage: A comprehensive review of factors of variability and consequences. **Biological Control**. v.58, n.2, p.83-95. 2011.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA (CDA). Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/www/gdsv/index.php?action=dadosCitriculturaPaulista>>. Acesso em: 04 nov. 2018.

COSTA LIMA, A. M. Psylloidea. In: **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 1942. v. 4p. 94–112.

DADAZIO, T.S., DIAS, R.C., MACHADO, C., BRITO, I.P.F.S., MATOS, A.K.S., DAVID, E.F.S. Incidência de Huanglongbing (Greening) em áreas de citrus no município de Espírito Santo do Turvo, SP. **Citrus Research & Technology**. v.39. 2018.

DINIZ, A.J.F. 2013. **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**. Tese (Doutorado em Entomologia) -Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 128 p.

ÉTIENNE, J, QUILICI, S, MARIVAL, D.; FRANCK, A. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). **Fruits**. v.56, p.307-315. 2001.

FERREIRA, R.V. **Influência do tipo de controle de huanglongbing em áreas cítricas na dispersão de *Diaphorina citri* e na disseminação da doença para pomares próximos**. 58 p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, 2014.

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA (FUNDECITRUS). **Greening: Manual técnico**. 2009. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/manuaistecnicos/fundecitrus_greening.pdf>. Acesso em: 05 nov. 2018.

GIBERT, P., MORETEAU, B., PETAVY, G., KARAN, G., DAVID, J.R. Chill coma tolerance: a major climatic adaptation among *Drosophila* species. **Evolution**. v.55, p.1063– 1068. 2001.

GÓMEZ-TORRES, M.L. **Estudos bioecológicos de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae)**. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009, 138p.

GÓMEZ-TORRES, M.L.; NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Life table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures. **Journal of Economic Entomology**. v.105, n.2, p.338-343. 2012.

GÓMEZ-TORRES, M.L.; NAVA, D.E.; PARRA, J.R.P. Thermal hygrometric requirements for the rearing and release of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera, Eulophidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v.58, n.3, p.291-295. 2014.

GOTTWALD, T.R.; DA GRAÇA, J.V.; BASSANEZI, R.B. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. **Plant Health Progress**, 2007.

HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P.; MORAES, R.C.B **Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. Fealq, Piracicaba, 1999.

HALL, D.G.; KLEIN, E.M. Short-Term Storage of Adult *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) Prior to Field Releases for Biological Control of Asian Citrus Psyllid. **Florida Entomologist**. v.97, n.1, p.298-300. 2014.

HODDLE, M.S.; PANDEY, R. Host Range Testing of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) Sourced From the Punjab of Pakistan for Classical Biological Control of *Diaphorina citri* (Hemiptera). **Journal Of Economic Entomology**. v.107, n.1, p.125-136. 2014.

HOY, M.; NGUYEN, R.; JEYAPRAKASH, A. Classical biological control of the Asian citrus psylla – release of *Tamarixia radiata*. **Citrus Industry**. v.80, p.20–22. 1999.

HOY, M.A.; NGUYEN, R. Classical biological control of Asian citrus psylla. **Citrus Industry**. v.81, p.48-50. 2001.

KOSTAL, V.; VAMBERA, J.; BASTL, J. On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. **Journal of Experimental Biology**. v.207, p.1509–1521. 2004.

KOŠTÁL, V.; YANAGIMOTO, M.; BASTL, J. Chilling-injury and disturbance of ion homeostasis in the coxal muscle of the tropical cockroach (*Nauphoeta cinerea*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**. v.143, p.171–179. 2006.

LEOPOLD, R.A. Colony maintenance and mass-rearing: using cold storage technology for extending the shelf-life of insects. In: VREYSEN, M.J.B., ROBINSON, A.S., HENDRICHS, J. (Eds.) **Area-Wide Control of Insect Pests**. Springer, Netherlands, pp. 149–162. 2007.

LOPES, S.A.; FRARE, G.F.; YAMAMOTO, P.T.; AYRES, A.J.; BARBOSA, J.C. Ineffectiveness of pruning to control citrus huanglongbing caused by *Candidatus Liberibacter americanus*. **European Journal of Plant Pathology**. v.119, p.463-468. 2006.

LYSYK, T.J. Effects of cold storage on development and survival of three species of parasitoids (Hymenoptera: Pteromalidae) of house fly, *Musca domestica* L. **Environmental Entomology**. v.33, p.823–831. 2004.

NEVES, M.F.; LOPES, F.F.; TROMBIN, V.G.; AMARO, A.A.; NEVES, E.M.; JANK, M.S. Caminhos para a Citricultura: uma agenda para manter a liderança mundial. 2007. São Paulo SP. **Editora Atlas SA**.

ONAGBOLA, E.O.; BOINA, D.R.; HERMANN, S.L.; STELINSKI, L.L. Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Annals of Entomological Society of America**. v. 102, p.523-531. 2009.

PAIVA, P.E.B. **Distribuição espacial e temporal, inimigos naturais e tabela de vida ecológica de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) em citros em São Paulo**. Tese de doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 64p. 2009.

PANDE, Y.U. Biology of Citrus Psylla *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae). **Israel Journal of Entomology**. v.6, p.307-311. 1971.

PANDEY, R.R.; JOHNSON, M.W. Effects of cool storage on *Anagyrus ananatis* Gahan (Hymenoptera: Encyrtidae). **Biological Control**. v.35, p.9–16. 2005.

PARRA, J.R.P.; DINIZ, A.J.F.; VIEIRA, J.M.; ALVES, G.R.. Utilização do parasitoide *Tamarixia radiata* como componente do manejo integrado do Huanglongbing. **Fundecitrus**. v.1, 2017.

PARRA, J.R.P.; DINIZ, A.J.F.; ALVES, G.R. Manejo externo. **Cultivar Hf**. Janeiro.p.28-31, 2018.

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

PARRA, J.R.P.; ALVES, G.R.; DINIZ, A.J.F.; VIEIRA, J.M. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) × *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): Mass Rearing and Potential Use of the Parasitoid in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 7, p.5-11, 2016.

PITCHER, S.A.; HOFFMANN, M.P.; GARDNER, J.; WRIGHT, M.G.; KUCHAR, T.P. Cold storage of *Trichogramma ostriniae* reared on *Sitotroga cerealella* eggs. **BioControl**. v.47, p.525–535. 2002.

RIVERS, D.B.; LEE, R.E.; DENLINGER, D.L. Cold hardiness of the fly pupal parasitoid *Nasonia vitripennis* is enhanced by its host *Sarcophaga crassipalpis*. **Journal of Insect Physiology**. v.46, p.99–106. 2000.

SHALABY, F.F.; RABASSE, J.M. Effect of conservation of the aphid parasitoid *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae) on adult longevity, mortality and emergence. **Annals of Agricultural Science**. v.11, p.58–71. 1979.

SIDRA. Área destinada a colheita – Laranja. Disponível em: <http://sidra.ibge.gov.br/tabela/1613>. Acesso em: 09.dez.2018

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N.A. **Manual de ecologia dos insetos**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 419p, 1973.

SINGH, R.; SRIVASTAVA, M. Effect of cold storage of mummies of *Aphis craccivora* Koch subjected to different pre-storage temperature on percent emergence of *Trioxys indicus* Subba Rao and Sharma. **Insect Science and Its Application**. v.9, p.655– 657. 1988.

TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A.; LOPES, S.A.; YAMAMOTO, P.T.; MIRANDA, M.P.; BELASQUE JUNIOR, J.; BASSANEZI, R.B. Caracterização e etiologia das bactérias associadas ao Huanglongbing. **Citrus Research & Technology** v.31, p.115-128. 2010.

TEIXEIRA, D.C.; WULFF, N.A.; MARTINS, E.C.; KITAJIMA, E.W.; BASSANEZI, R.; AYRES, A.J.; EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J.M. A phytoplasma closely related to the pigeon pea witches'-broom phytoplasma (16Sr IX) is associated with citrus Huanglongbing symptoms in the state of Sao Paulo, BR. **Phytopathology**. v.98, p.977-984. 2008.

TEXEIRA, D.C.; AYRES, J.; KITAJIMA, E.W.; DANET, L.; JAGOUEIX-EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J.M. First Report of a Huanglongbing-Like Disease of Citrus in Sao Paulo State, Brazil and Association of a New Liberibacter Species, "Candidatus Liberibacter americanus", with the Disease. **Plant Disease**. v.89, n.1, p.107. 2005.

van LENTEREN, J.; TOMMASINI, M. Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies. In: ALBAJES, R.; GULLINO, M.L.; van LENTEREN, J.C.; ELAD, Y. (Eds.), Mass Production, Storage, Shipment and Quality Control of Natural Enemies, **Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops**. Springer, Netherlands, pp. 276–294, 2002.

VENKATESAN, T.; SINGH, S.P.; JALALI, S.K. Effect of cold storage on cocoons of *Goniozus nephantidis* Muesebeck (Hymenoptera: Bethyridae) stored for varying periods at different temperature regimes. **Journal of Entomological Research**. v.24, p.43–47. 2000.

ZANARDI, O.Z.; VOLPE, H.X.L.; FAVARIS, A.P.; SILVA, W.D.; LUVIZOTTO, R.A.G.; MAGNANI, R.F.; ESPERANÇA, V.; DELFINO, J.Y.; DE FREITAS, R.; MIRANDA, M.P.; PARRA, J.R.P.; BENTO, J.M.S.; LEAL, W.S. Putative sex pheromone of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, breaks down into an attractant. **Scientific Reports**, v.8, n.1, 455. 2018.