

**EL MINADOR DE LA HOJA DE LOS CÍTRICOS,
Phyllocnistis citrella (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE):
Bioecología y control biológico**

Proyecto N° 159

Manejo integrado del Minador de los Cítricos, con énfasis en control biológico

Editora: Gabriela Asplanato

Título: EL MINADOR DE LA HOJA DE LOS CÍTRICOS, *Phyllocnistis citrella* (LEPIDOPTERA: GRACILLARIIDAE): Bioecología y control biológico

Editora: Gabriela Asplanato

Serie: FPTA N° 24

© 2009, INIA

ISBN: 978-9974-38-274-9

Editado por la Unidad de Comunicación y Transferencia de Tecnología del INIA
Andes 1365, Piso 12. Montevideo - Uruguay
<http://www.inia.org.uy>

Quedan reservados todos los derechos de la presente edición. Esta publicación no se podrá reproducir total o parcialmente sin expreso consentimiento del INIA.

Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria

Integración de la Junta Directiva

Ing. Agr., Dr. Dan Piestun - Presidente

Ing. Agr., Dr. Mario García - Vicepresidente



Ing. Agr. José Bonica

Dr. Alvaro Bentancur



Ing. Agr., MSc. Rodolfo M. Irigoyen

Ing. Agr. Mario Costa



Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria

El Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA) fue instituido por el artículo 18º de la ley 16.065 (ley de creación del INIA), con el destino de financiar proyectos especiales de investigación tecnológica relativos al sector agropecuario del Uruguay, no previstos en los planes del Instituto.

El FPTA se integra con la afectación preceptiva del 10% de los recursos del INIA provenientes del financiamiento básico (adicional del 4o/oo del Impuesto a la Enajenación de Bienes Agropecuarios y contrapartida del Estado), con aportes voluntarios que efectúen los productores u otras instituciones, y con los fondos provenientes de financiamiento externo con tal fin.

EL FPTA es un instrumento para financiar la ejecución de proyectos de investigación en forma conjunta entre INIA y otras organizaciones nacionales o internacionales, y una herramienta para coordinar las políticas tecnológicas nacionales para el agro.

Los proyectos a ser financiados por el FPTA pueden surgir de propuestas presentadas por:

- a) los productores agropecuarios, beneficiarios finales de la investigación, o por sus instituciones.
- b) por instituciones nacionales o internacionales ejecutoras de la investigación, de acuerdo a temas definidos por sí o en acuerdo con INIA.
- c) por consultoras privadas, organizaciones no gubernamentales o cualquier otro organismo con capacidad para ejecutar la investigación propuesta.

En todos los casos, la Junta Directiva del INIA decide la aplicación de recursos del FPTA para financiar proyectos, de acuerdo a su potencial contribución al desarrollo del sector agropecuario nacional y del acervo científico y tecnológico relativo a la investigación agropecuaria.

El INIA a través de su Junta Directiva y de sus técnicos especializados en las diferentes áreas de investigación, asesora y facilita la presentación de proyectos a los potenciales interesados. Las políticas y procedimientos para la presentación de proyectos son fijados periódicamente y hechos públicos a través de una amplia gama de medios de comunicación.

El FPTA es un instrumento para profundizar las vinculaciones tecnológicas con instituciones públicas y privadas, a los efectos de llevar a cabo proyectos conjuntos. De esta manera, se busca potenciar el uso de capacidades técnicas y de infraestructura instalada, lo que resulta en un mejor aprovechamiento de los recursos nacionales para resolver problemas tecnológicos del sector agropecuario.

El Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria contribuye de esta manera a la consolidación de un sistema integrado de investigación agropecuaria para el Uruguay.

A través del Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA), INIA ha financiado numerosos proyectos de investigación agropecuaria a distintas instituciones nacionales e internacionales. Muchos de estos proyectos han producido resultados que se integran a las recomendaciones tecnológicas que realiza la institución por sus medios habituales.

En esta serie de publicaciones, se han seleccionado los proyectos cuyos resultados se considera contribuyen al desarrollo del sector agropecuario nacional. Su relevancia, el potencial impacto de sus conclusiones y recomendaciones, y su aporte al conocimiento científico y tecnológico nacional e internacional, hacen necesaria la amplia difusión de estos resultados, objetivo al cual se pretende contribuir con esta publicación.

CONTENIDO

Pág.

Capítulo I. INTRODUCCION. EL MINADOR DE LA HOJA DE LOS CÍTRICOS EN EL CONTEXTO DEL MANEJO DE PLAGAS DEL CULTIVO. RESEÑA DE LAS INVESTIGACIONES REALIZADAS EN URUGUAY	9
--	---

Gabriela Asplanato

Capítulo II. RECONOCIMIENTO, DAÑOS E IMPORTANCIA ECONÓMICA	13
--	----

Gabriela Asplanato

1. Ubicación taxonómica	13
2. Descripción de las fases de desarrollo	13
3. Distribución	16
4. Hospederos	17
5. Daños	17
6. Resumen	22

Capítulo III. BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y ENEMIGOS NATURALES	23
---	----

Gabriela Asplanato

1. Biología y comportamiento	23
2. Fluctuación estacional de las poblaciones	25
3. Monitoreo de las poblaciones	28
4. Enemigos naturales	28
5. Resumen	32

Capítulo IV. PARASITOIDE NATIVO PREDOMINANTE EN URUGUAY: <i>Cirrospilus neotropicus</i> (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)	33
---	----

Soledad Amuedo, Leticia Bao y Gabriela Asplanato

1. Descripción de las fases de desarrollo	33
2. Desarrollo y reproducción	34
3. Parasitismo	35
4. Resumen	36

Capítulo V. CONTROL BIOLÓGICO APLICADO	39
--	----

Gabriela Asplanato

1- Introducción	39
2. Algunas experiencias de control biológico en el mundo	40

Capítulo VI. CONTROL BIOLÓGICO CLÁSICO EN URUGUAY	45
---	----

José Buenahora y Leticia Rubio

1. Introducción y liberación de <i>Ageniaspis citricola</i>	45
---	----

	Pág.
2. Cría de <i>Ageniaspis citricola</i>	47
3. Introducción de <i>Citrostichus phyllocnistoides</i>	50
4 Cría de <i>Citrostichus phyllocnistoides</i>	50
5. Liberación de <i>Citrostichus phyllocnistoides</i>	51
6. Resumen.....	51
 BIBLIOGRAFÍA.....	 53

Asplanato, G.*

*Departamento de Protección Vegetal.
Facultad de Agronomía UDELAR

Capítulo I

Introducción. El minador de la hoja de los cítricos en el contexto del manejo de plagas del cultivo. Reseña de las investigaciones realizadas en Uruguay

Proyecto FPTA 159

Período Ejecución: Abr. 2004 - Oct. 2006

1. Introducción

El cultivo de los cítricos conforma un agroecosistema complejo relativamente estable, que presenta una gran cantidad de insectos y ácaros fitófagos que afectan directamente la producción, la calidad del producto obtenido o son transmisores de enfermedades. Algunas de las especies son plagas primarias que provocan daños serios y necesitan un control frecuente de sus poblaciones; otras son consideradas ocasionales o esporádicas. Muchos de estos fitófagos se encuentran regulados naturalmente y no necesitan tratamientos específicos para su control a menos que sus poblaciones sean perturbadas por condiciones ecológicas particulares o tratamientos insecticidas no selectivos que afecten a los enemigos naturales. Los organismos benéficos son muy abundantes en el agroecosistema citrícola y su preservación es un factor a considerar en el manejo de plagas del cultivo.

La gran mayoría de las plagas que viven en los cítricos son especies foráneas que ingresaron y se establecieron en Uruguay gradualmente desde el inicio de la citricultura. Muchas de estas especies son hemípteros, pero también se encuentran comúnmente coleópteros, dípteros, tisanópteros, himenópteros y ácaros los cuales frecuentemente u ocasionalmente provocan daños de importancia en el cultivo. El

minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton, es la plaga foránea de introducción más reciente y es el único lepidóptero considerado actualmente de importancia en el cultivo. Se detectó por primera vez en Uruguay a comienzos de 1997 en plantaciones comerciales de cítricos del departamento de Salto. En ese mismo año se observó en otras localidades de las zonas norte y sur, en brotaciones de verano y otoño. En la temporada siguiente, se encontraba en todo el territorio nacional y prácticamente en todas las plantaciones citricolas. Aunque la intensidad del daño fue variable, en general se registraron altas densidades de población en los distintos cultivares y tanto en plantas de viveros como en árboles jóvenes y adultos, causando daños muy notorios. Los daños se visualizaban a través de la presencia de brotes que presentaban hojas arrolladas, con áreas necrosadas e inclusive se observaron defoliaciones muy evidentes. El ingreso de esta nueva plaga a nuestro territorio era previsible debido a la rápida expansión que la misma estaba experimentando a nivel mundial y particularmente por su presencia en países de la región. Al continente americano ingresó en 1993 por el Estado de Florida en Estados Unidos y a partir de ese momento, se produce una rápida dispersión por Norte, Centro y Sudamé-

rica. A solo dos o tres años de su introducción al continente la plaga se encontró en Argentina y en Brasil.

La larva de *P. citrella* realiza galerías en las hojas tiernas, daño directo que afecta en mayor medida a las plantas más jóvenes. Provoca además daños indirectos de relevancia, debido a que las heridas causadas son una vía de entrada de la bacteria *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, organismo causal del cancro cítrico, enfermedad cuarentenaria considerada uno de los problemas sanitarios principales de la citricultura. El ingreso del minador generó un nuevo e importante factor de riesgo de aumento de la incidencia de la enfermedad.

Las características propias de la especie tales como sus hábitos minadores, la estrecha asociación a tejidos en crecimiento y su ciclo de desarrollo corto con una gran superposición de generaciones, la convierten en una plaga de gran complejidad en su manejo. Para la supresión de sus poblaciones son necesarias repetidas intervenciones químicas, lo que genera, además de un aumento en los costos de producción, otros posibles efectos negativos tales como la aparición de resistencia de la plaga, presencia de residuos en los alimentos y en el medioambiente y disminución de las poblaciones de enemigos naturales del minador y de otras especies fitófagas. El efecto perjudicial sobre la fauna benéfica toma relevancia en el cultivo de cítricos donde, como ya se mencionó, la gran mayoría de los fitófagos que viven sobre él, se encuentran regulados naturalmente. En un principio, el control químico se restringía a plantas de vivero y montes jóvenes, situaciones en las cuales se consideraba que el daño directo provocado por el minador justificaba el empleo de insecticidas. Sin embargo, debido al aumento de la incidencia del cancro cítrico en las plantaciones, el control químico se extendió a árboles en plena producción y en muchos casos se realizaron un número muy alto de aplicaciones en un intento de proteger las brotaciones, independientemente del nivel de población que presentaba la plaga.

Desde su introducción en el año 1997, la Unidad de Entomología de la Facultad de Agronomía y el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA-Salto Grande e INIA-Las Brujas) vienen realizando investigaciones conjuntas con el objetivo de contribuir al manejo integrado del minador, generando una base amplia de información sobre el comportamiento, biología y ecología de esta plaga, y evaluando y desarrollando métodos de control adecuados. Una estrategia de control apropiada implica que los métodos empleados no solo deben ser efectivos, sino también compatibles con el manejo de plagas que en dicho cultivo se realiza, y de esta manera evitar posteriores desequilibrios en el agroecosistema cítrico. En este sentido los estudios se centraron en la evaluación de los enemigos naturales locales y de parasitoides foráneos. En el año 2000 se puso en marcha un programa de introducción de parasitoides, el cual representó la primera experiencia de control biológico aplicado en nuestros cítricos desde el año 1919, cuando se introdujo el depredador *Rodolia cardinalis* para el control de la cochinilla acanalada *Icerya purchasi*. También, se realizaron estudios sobre control químico, considerado como un método complementario en el manejo integrado de la plaga. Se evaluó la efectividad de distintos insecticidas, algunos de última generación, y se determinaron momentos de aplicación oportunos, como forma de disminuir al máximo el número de intervenciones. Asimismo, se testó la selectividad de varios de los productos sobre los enemigos naturales principales de minador.

La investigación fue financiada por la Comisión Sectorial de Investigación Científica (Universidad de la República), el Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (INIA) y la Dirección General de Servicios Agrícolas del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (DGSA). Para la realización de algunos de los trabajos se recibieron aportes complementarios de empresas cítricas y de agroquímicos. Estas fuentes de financiamiento permitieron el desarrollo de un programa de investigación constante en el tiempo y coordinado a escala nacional. Es de destacar el permanente apoyo recibido de los productores y

de los técnicos asesores de cítricos en todos los trabajos realizados. En el equipo de trabajo participaron: Beatriz Scatoni, Carlos Bentancourt, Jorge Pazos y Jorge Franco de Facultad de Agronomía, Jorge Paullier de INIA- Las Brujas y José Buena-hora de INIA-Salto Grande. Se recibió asesoramiento de investigadores de instituciones extranjeras: Antonio Garrido (IVIA, España), Fernando García-Marí (Universidad Politécnica de Valencia, España); Eduardo Willink (Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán, Argentina); Roberto Postalí Parra (ESALQ- San Pablo, Brasil), Kazuaki Kamijo (Proyecto INIA-JICA: Protección de árboles frutales).

El objetivo de esta publicación es presentar los conocimientos bioecológicos que se tienen de la plaga, enfatizando los generados en las condiciones de nuestro país y divulgar los resultados del programa de control biológico llevado adelante. En el capítulo dos se tratan aspectos generales como son la distribución actual de *P. citrella*, sus hospederos, el reconocimiento de los diferentes estados de desarrollo, la identificación de sus daños, así como se discute su importancia económica. El capítulo tres se refiere a los aspectos biológicos, de comportamiento y ecológicos de la plaga. Así mismo, se presentan los principales resultados obtenidos en los

estudios de fluctuación de las poblaciones en relación a los períodos de brotaciones de los cítricos y a variables climáticas, conocimientos fundamentales para el desarrollo de planes de manejo de la plaga en el cultivo. También se hace referencia a los principales enemigos naturales de la plaga en el mundo, así como a los identificados en la región y específicamente en nuestro país. Este relevamiento es un paso previo para llevar adelante programas de control biológico aplicado. El capítulo cuatro se centra en *Cirrospilus neotropicus*, el parasitoide predominante en nuestra región. Presentamos los principales avances obtenidos en el conocimiento biológico y en el parasitismo, como una contribución para la evaluación de esta especie como regulador de las poblaciones del minador. Los últimos capítulos se refieren al control biológico aplicado, al cual consideramos como el pilar fundamental en el desarrollo del manejo integrado de plagas en el cultivo. Mientras que en el capítulo cinco se tratan algunos aspectos generales y varios programas de control biológico clásico realizados en algunas zonas citrícolas, en el capítulo seis se reseñan específicamente al llevado adelante en Uruguay, marcando sus logros y dificultades.

Capítulo II

Reconocimiento, daños e importancia económica

1. Ubicación taxonómica

***Phyllocnistis citrella* Stainton**

ORDEN: Lepidoptera

FAMILIA: Gracillariidae

SUBFAMILIA: Phyllocnistinae

Los lepidópteros de la familia Gracillariidae son pequeños insectos minadores de hojas, tallos y frutos. Algunas especies son consideradas de importancia económica. En Uruguay se destaca *Phyllocnistis citrella* por los daños que produce en los cítricos. Otra especie frecuente, aunque no de relevancia, es *Porphyrosela minuta*, la cual vive sobre tréboles (Bentancourt y Scatoni, 2006).

Los adultos de los graciláridos son mariposas que miden entre 5 a 20 mm, presentan el cuerpo delgado frecuentemente con colores vistosos y reflejos metálicos, a veces con bandas y manchas notorias. Las antenas son tan o más largas que las alas anteriores. Las alas son estrechas, lanceoladas y con largos pelos en su margen. Las larvas de los primeros estadios presentan las piezas bucales adaptadas para alimentarse de la savia de sus plantas hospederas. Son los únicos lepidópteros que presentan un estado larvario que se alimenta de savia. Las patas verdaderas y las falsas están muy reducidas o ausentes. Forman túneles y cavidades en la capa interior de las hojas donde viven y se desarrollan, al menos durante parte de su vida. En algunas especies, las larvas de

los últimos estadios pueden perder sus hábitos endofíticos, presentan patas desarrolladas y las piezas bucales se adaptan para cortar los tejidos. Las galerías tienen formas diversas, pueden ser serpenteantes, ovales o circulares. Algunas especies pueden cortar y enrollar el folíolo formando un refugio donde pupan (Davis, 1987; Nielsen y Common, 1991).

La subfamilia Phyllocnistinae comprende a mariposas muy pequeñas, generalmente de coloraciones blanquecinas brillantes y con diseños en las alas distintivos. La larva produce minas en forma de serpentina y de coloración plateada. Tiene un último instar fuertemente modificado, es ápodo y no se alimenta. La pupa se encuentra dentro de una cámara construida por hilos de seda que pliegan los tejidos vegetales (Nielsen y Common, 1991).

El minador de la hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella*, es una especie probablemente originaria del sudeste asiático, zona donde son también originarias sus plantas hospederas, los cítricos y otras rutáceas. Fue descrito por primera vez por Stainton en 1856 de material colectado sobre cítricos en la India (Knapp *et al.*, 1995; Hoy y Nguyen, 1997).

2. Descripción de las fases de desarrollo

La descripción de los distintos estadios de desarrollo aquí presentada está basada en las realizadas por Knapp *et*

al. (1995), Sánchez *et al.* (2002), y observaciones realizadas en nuestros trabajos.

Adulto. El adulto de *P. citrella* es una pequeña mariposa con las alas y el cuerpo de color blanco nacarado (Figura 2.1). Mide de 2 a 3 mm de longitud y de 4 a 5 mm de expansión alar. Las alas son escamosas con numerosos pelos marginales largos. Las anteriores poseen varias franjas oscuras transversales y longitudinales. En su extremo apical presentan una mancha negra bien notoria y un fleco de cerdas largas. Las alas posteriores son muy estrechas y con un fleco de color blanco. Posee antenas filiformes largas. Las diferencias morfológicas externas entre los sexos no son notorias.



Figura 2.1. Adulto de *P. citrella*. Presenta un color blanco nacarado. Las alas poseen una mancha negra en el ápice y bandas transversales y longitudinales.

Huevo. Los huevos son muy pequeños de 0,3 x 0,2mm, difíciles de observar a simple vista y se confunden con gotas de agua. Recién puestos son transparentes y próximo a la eclosión adquieren una coloración amarillenta opaca. Tienen forma lenticular, suavemente convexos, de aspecto céreo y al ser removidos muestran una consistencia gelatinosa. Son colocados individualmente tanto en el haz como en el envés de las hojas.

Larva. Al eclosionar, la larva neonata traspasa la epidermis de la hoja y comienza inmediatamente a formar la mina separando, mediante movimientos de la cápsula cefálica, las células por debajo de la cutícula y alimentándose de los jugos producidos. La larva siempre permanece dentro de la galería que construye. Posee las patas muy pequeñas y los movimientos se realizan por contracciones y expansiones de los segmentos del cuerpo. Pasa por cuatro estadios larvarios.

Durante el primer estadio de desarrollo (L1) mide entre 0,5 y 1mm, es translúcida y con el cuerpo comprimido dorsoventralmente (Figura 2.2). La cabeza y el tórax son notoriamente más anchos que el resto del cuerpo. Realiza una galería lineal muy tenue, la cual se inicia comúnmente cerca de la nervadura central y se extiende de forma paralela a la misma hasta alcanzar la parte basal de la hoja.



Figura 2.2. Larva de primer estadio (L1). La galería es lineal y en general corre paralela a la nervadura central.

En el segundo estadio larvario (L2) adquiere una coloración amarillo pálido y alcanza una longitud de entre 1,6 y 2,1 mm (Figura 2.3). El protórax es más ancho que la cabeza y el resto del cuerpo. En este estadio la galería comienza a hacerse sinuosa.

La larva de tercer estadio (L3) mide aproximadamente 3 mm al final del período, presenta un color amarillo más definido, los segmentos son claramente visibles y no muestra un ensanchamiento en su parte anterior (Figura 2.4). La mina es muy notoria y con la forma sinuosa característica.

Al final de su desarrollo, la larva se dirige por lo general hacia el margen de la hoja donde pasa al cuarto estadio, generalmente denominado prepupa. En hospederos de hojas grandes o cuando los huevos

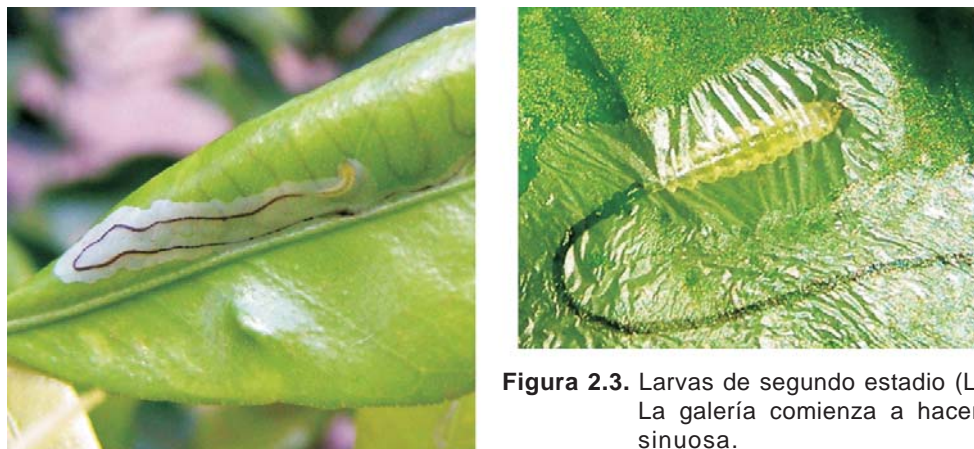


Figura 2.3. Larvas de segundo estadio (L2). La galería comienza a hacerse sinuosa.

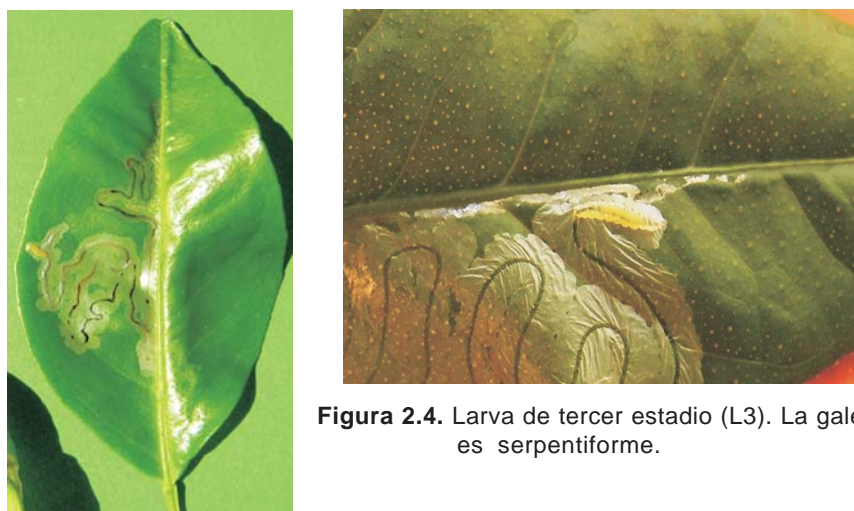


Figura 2.4. Larva de tercer estadio (L3). La galería es serpentiforme.

son depositados en los folíolos totalmente expandidos, a veces el insecto no logra alcanzar el borde de la lámina foliar, aunque esto no impide que continúe su desarrollo.

Al final de su desarrollo la larva se dirige en general hacia el borde de la hoja

Prepupa. La prepupa es de color blanquecino, adquiere una forma casi cilíndrica con los segmentos torácicos algo más anchos que el resto del cuerpo (Figura 2.5). Mide aproximadamente 3,5 mm. En este estado el insecto no se alimenta y construye una cámara cubriendo las paredes internas de la mina con hilos de seda que al secarse se contraen haciendo que el borde de la hoja se pliegue. De esta manera se forma una estructura de protección donde el insecto pupa.



Larva de cuarto estadio o prepupa. Realiza una cámara con hilos de seda que al secarse se contraen y doblan la hoja.



Pupa dentro de su cámara en el margen de la hoja

Hoja con una alta infestación de la plaga. Se observan varias galerías y cámaras pupales.

Figura 2.5. Prepupa (larva de cuarto estadio) y pupas de *P. citrella*.

Pupa. La pupa obtecta es de forma ahusada, mide entre 2,5 y 2,8 mm de largo (Figura 2.5). Presenta inicialmente una coloración amarilla-castaña, se oscurece con el tiempo y próximo a la emergencia adquiere un color marrón oscuro. En la cabeza posee una espina muy quitinizada, estructura que utiliza para romper el velo sedoso de la cámara pupal en el momento de la emergencia. Por lo general la exuvia queda en el punto de salida del insecto adulto. En este estado es posible la diferenciación de sexos (Jacas y Garrido, 1996). En la hembra el último segmento visible es de mayor longitud que el del macho y posee un par de cerdas laterales largas.

3. Distribución

El minador de la hoja de los cítricos, especie probablemente originaria del sudeste asiático, actualmente se puede considerar cosmopolita, encontrándose en todas las zonas citrícolas del mundo (Figura 2.6).

En una fase inicial de dispersión que ocupa gran parte del siglo xx, la plaga se expandió lenta y continuamente ocupando fundamentalmente zonas tropicales y subtropicales de Asia, África y Oceanía. Durante este proceso el minador ingresó a Filipinas, Japón, Corea, Indonesia, Taiwán, Irán, Irak, Arabia Saudita, Australia y Sudáfrica (Heppner, 1993).

A principios de los años 90 se produce una segunda fase de dispersión en la cual el minador mostró un rápido proceso de colonización de otras regiones del mundo y en la cual alcanzó los continentes europeo y americano. También, en esa etapa *P. citrella* resurgió y se dispersó rápidamente a otras zonas citrícolas en países como Sudáfrica y Australia donde la plaga ya había sido registrada (Smith y Beattie, 1996; de Villiers, 1998, Ware y Hattingh, 1996). Es realmente extraordinaria la velocidad con que la plaga llegó a ocupar grandes áreas, a veces países enteros, en el mismo año en que ingresaba (Hoy y Nguyen, 1997). En la mayoría de las nuevas zonas donde se establecía, adquiría la condición de plaga importante.

En Europa se detecta en España en el año 1993 en Málaga y Cádiz (Garijo y García, 1994) extendiéndose pronto a otras provincias. Al poco tiempo se encontró en Italia, Portugal, Francia, Grecia, llegando también a Israel, Turquía, Jordania, Egipto, Argelia y Marruecos (Knapp *et al.*, 1995). Actualmente ocupa toda la cuenca mediterránea.

Al igual que en Europa, la introducción de la plaga en el continente americano fue en el año 1993. Se detectó en principio en el estado de Florida en Estados Unidos, y rápidamente se extendió a otras zonas próximas (Heppner, 1993; Knapp *et al.*, 1995). Se dispersó también hacia el Caribe y el sur del continente, alcanzando la mayor parte de Centroamérica y América del Sur. En el mismo año se registró en



Figura 2.6. Distribución mundial del minador de la hoja de los cítricos. Adaptado de Knapp *et al.*, 1995.

Cuba, en las Islas Caimán, Belice y Costa Rica. En el año 1995, se detectó en Venezuela, Colombia, Perú y Argentina. En Argentina se observó por vez primera a fines de 1995 en la provincia de Tucumán (Willink, *et al.*, 1996), y ya en febrero-marzo del año siguiente se encontraba presente en toda la región del noroeste. A fines del año 1996 se detecta en las provincias de Corrientes y Concordia (Cáceres, 1999 b; Putruele y Petit, 1999). En Brasil se reporta en marzo de 1996 al sur del estado de San Pablo (Feichtenberger y Raga, 1996; Prates *et al.*, 1996) y a fines de ese mismo año la plaga fue encontrada en Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina y Río Grande do Sul. En el año 1998 se detecta en Chile (Servicio Agrícola Ganadero-Gobierno de Chile, 2005) y en el año 2000 en California (EE.UU.) (Grafton-Cardwell *et al.*, 2007), siendo éstas las últimas zonas cítrícolas invadidas en el continente americano.

La presencia del minador de la hoja los cítricos en la región y la rápida dispersión que había mostrado en las diferentes zonas donde ingresaba, hacía que fuera previsible su introducción a Uruguay. El insecto se detectó a mediados de enero de 1997 en quintas de cítricos en la zona norte, primero en el departamento de Salto y seguidamente en el de Paysandú. Aproximadamente un mes después se encontró en varias plantaciones comerciales de la zona sur. En ese mismo momento, se observaron también ataques en quintas del departamento de Rivera. En la temporada siguiente el insecto ya se encontraba disperso en todo el territorio nacional. Desde un principio la plaga produjo daños muy evidentes en todas las variedades cultivadas y tanto en plantas jóvenes como en plena producción. Aunque los niveles poblacionales fueron variables, en muchos casos se observaron infestaciones muy severas.

No se conocen las razones por las cuales se produjo esa muy rápida y eficaz dispersión de *P. citrella* a fines del Siglo XX, extendiéndose por todas las regiones cítrícolas del mundo. La alta movilidad, gran capacidad de multiplicación y de adaptarse a condiciones ambientales muy diversas son características propias de la especie que pueden explicar, por lo menos en parte, su amplia expansión. También la dispersión pasiva del insecto por el viento, es otra forma por la cual el insecto podría alcanzar áreas más lejanas. Por otro lado, el

intercambio de material vegetal entre las regiones es un factor que posiblemente contribuyó a su dispersión a largas distancias y explicaría, en gran medida, la actual distribución del minador de la hoja de los cítricos.

4. Hospederos

El minador de la hoja de los cítricos se encuentra estrechamente relacionado con plantas integrantes de la familia de las rutáceas. Está citado sobre más de 50 cultivares, especialmente pertenecientes al género *Citrus*, pero también en otras rutáceas como *Murraya paniculada* y *Poncirus trifoliata*. En la actualidad todas las especies de cítricos y sus híbridos cultivados son atacados con mayor o menor intensidad. Se citan también plantas hospederas pertenecientes a otras familias: Oleaceae, Clusiaceae, Loranthaceae, Leguminosae, Lauraceae, Fabaceae y Tiliaceae (Heppner, 1993; De Prins y De Prins, 2005). Sin embargo, algunos de los hospederos reportados no son apropiados para el desarrollo del minador y las larvas no prosperan (Heppner, 1993), y otros necesitan confirmación (De Prins y De Prins, 2005).

En Uruguay su presencia ha sido registrada en todos los cultivares de naranjos (*Citrus sinensis*), limoneros (*Citrus limon*), pomelos (*Citrus paradisi*), mandarinos (*Citrus reticulata*) y los híbridos 'Ortanique', 'Nova', 'Murcott', y 'Ellendale'. También se ha observado atacando 'Kumquat' (*Fortunella* spp.), limón 'Cravo' (*Citrus limonia*), trifolia (*Poncirus trifoliata*) y sus híbridos.

5. Daños

Daños directos

Los daños son producidos por las larvas y están restringidos fundamentalmente a las hojas tiernas de los brotes. Las hembras realizan la puesta en el haz y en el envés principalmente de las hojas recientemente emergidas. Las hojas endurecidas no son atacadas. Cuando se completa el desarrollo embrionario, la larva perfora el huevo por la superficie que se encuentra en contac-

to con el tejido vegetal, penetra directamente a la hoja, se instala y comienza a alimentarse causando galerías muy características, sinuosas, serpentiformes y de coloración plateada.

La larva se alimenta de las células epidérmicas, dejando la cutícula y la pared celular externa intactas las cuales forman el techo de la mina. Progresa a través del tejido por movimientos laterales y hacia delante de la cápsula cefálica. Estos movimientos producen una presión contra las células epidérmicas más próximas provocando su ruptura (Achor *et al.*, 1997). El contenido de las células destruidas es consumido por las larvas a través de una activa succión. La mina presenta una coloración plateada debido a la entrada de aire por debajo de la cutícula. Los excrementos del insecto se acumulan y forman una línea visible en el centro de la mina. Inicialmente son blanquecinos y posteriormente se oscurecen. A partir del segundo estadio larvario, la mina se ensancha, adquiere la forma sinuosa característica y puede llegar a ocupar gran parte del limbo. En general no atraviesa la nervadura central ni pasa a la otra cara. Una sola larva puede consumir entre 1 y 7 cm² de la lámina foliar (Knapp *et al.*, 1995).

La respuesta de la planta es el desarrollo a lo largo de la mina de un tejido calloso con células grandes, turgentes y con paredes delgadas. Las condiciones apropiadas de humedad que se mantiene en el ambiente protegido del interior de la galería permiten la formación de este tipo de células. Si la cubierta de la mina permanece intacta, las células de callo desarrollan una capa gruesa de cutícula, la cual es cubierta posteriormente por pequeñas placas de cera. De esta manera la galería se recubre de una nueva capa epidérmica. Sin embargo es común que por acción del viento y lluvia o simplemente por la propia expansión de la hoja, la fina capa de cutícula se desgarre, creando aberturas que provocan desecación de los tejidos internos y favorecen la invasión por microorganismos. En este caso, ante la herida producida, es probable que se forme un peridermo constituido por capas de tejidos suberizados y lignificados (Achor *et al.*, 1997).

Los daños que las larvas realizan en las hojas en desarrollo, conducen a un proceso de deshidratación, necrosis y rotura de tejidos, pudiendo provocar finalmente defoliación. Aunque la lámina foliar puede continuar expandiéndose y endureciéndose a pesar del daño que se produce en la epidermis, en general las hojas se enrollan y deforman. Esto provoca una disminución del área fotosintética lo cual podría traducirse en reducción de los rendimientos o pérdidas de vigor de la planta.

La intensidad del daño va a depender de la abundancia de larvas en las hojas y del tamaño de éstas al momento del ataque (Figura 2.7). Una larva puede afectar el 50% de la superficie de una de las caras de los folíolos (Robles *et al.*, 2005). Cuanto más tierna es la hoja en el momento del ataque, el daño final será mayor. Si las hojas son pequeñas y soportan altas poblaciones, las larvas agotan rápidamente el alimento disponible. En este caso, a pesar de que los folíolos pueden continuar creciendo, su tamaño final será menor y presentarán un mayor grado de deformación. Si las poblaciones son bajas, los tejidos pueden regenerarse, las hojas logran alcanzar su tamaño definitivo y mantener su capacidad fotosintética.

Las condiciones climáticas predominantes en los momentos de brotaciones también influyen en la severidad de los daños provocados por las larvas. Cuando las temperaturas son altas son más intensos, debido a que se produce una mayor deshidratación de los tejidos y fundamentalmente a que la tasa de crecimiento de la mina es mayor a la de la hoja (Granda, 2000).

En Uruguay a fines de verano–inicio de otoño en condiciones de altas poblaciones, es frecuente encontrar en limoneros más de 10 larvas en una misma hoja. En estas situaciones el daño es muy notorio con prácticamente todos los brotes atacados y con la mayoría de las hojas fuertemente deformadas y a veces completamente defoliados.

Otras estructuras del árbol que pueden ser dañadas, aunque en menor medida que las hojas, son los tallos tiernos de los brotes y los frutos pequeños en crecimiento. Estas estructuras son atacadas solo cuando las poblaciones de la plaga son elevadas y existe una escasez de hojas

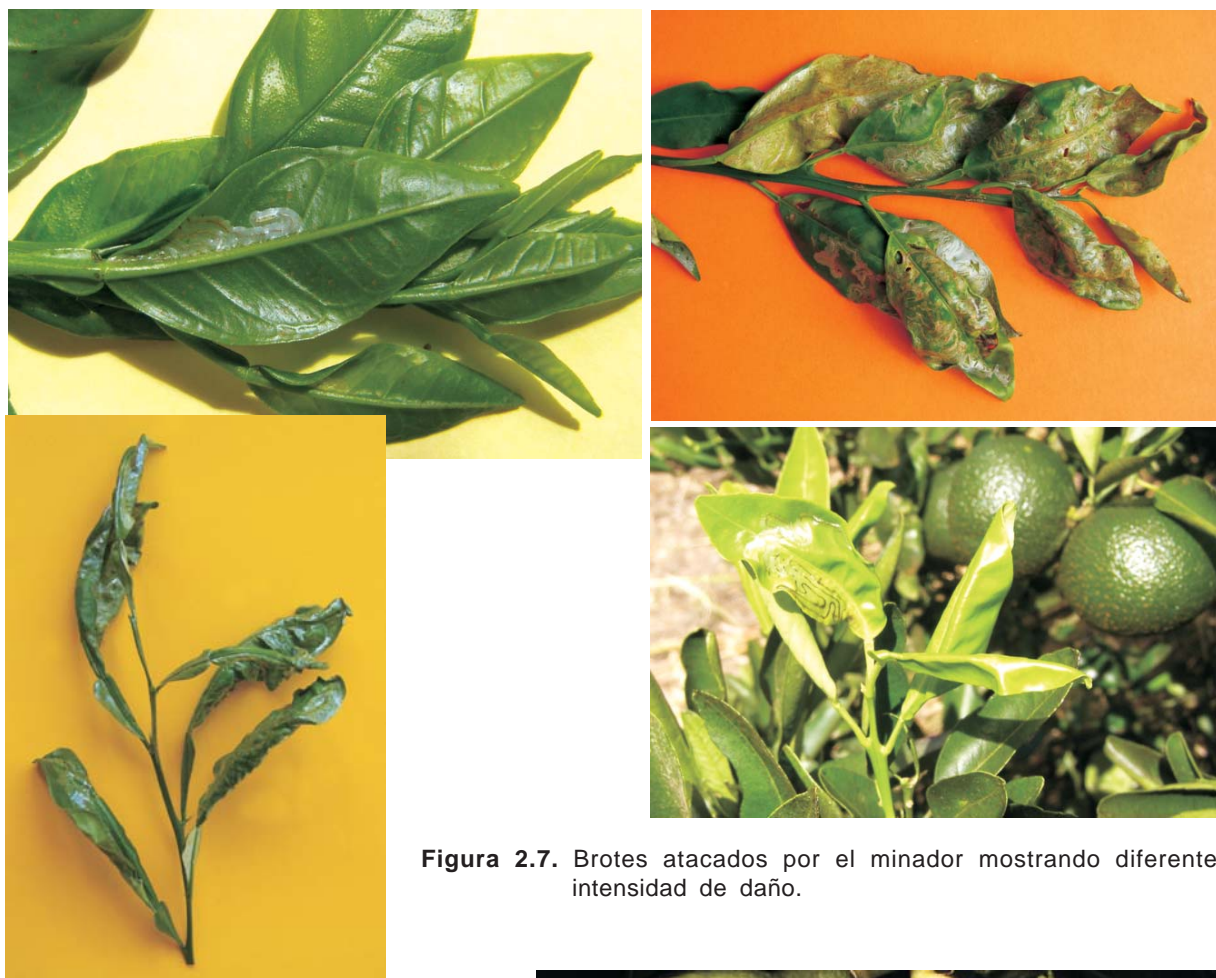


Figura 2.7. Brotes atacados por el minador mostrando diferente intensidad de daño.

tiernas. La hembra puede realizar la puesta en los tallos de los brotes, siempre que sean tiernos y succulentos. Si bien la larva se desarrolla y forma galerías similares a las observadas en las hojas, no puede pupar por no poder formar un pliegue que le permitan alojarse en su interior. La herida realizada en estos tejidos cicatriza y no tiene consecuencias posteriores de entidad. En los frutos pequeños también se pueden observar galerías superficiales de la forma sinuosa característica (Figura 2.8), pero las larvas encuentran las mismas dificultades para pupar que en los tallos, por lo que el ciclo no se completa. (Knapp *et al.*, 1995).

La incidencia del daño de minador sobre el desarrollo vegetativo y la producción del árbol depende de varios factores, principalmente de la edad de la planta y de la abundancia y distribución de las brotaciones en relación a las fluctuaciones de las poblaciones de la plaga.



Figura 2.8. Galería de minador en fruto. Cuando las poblaciones son elevadas y los brotes escasos, las hembras pueden oviponer en tallos tiernos y en frutos en desarrollo. En estos casos el desarrollo del insecto se interrumpe al no poder pupar.

En nuestra región la abundancia de la plaga es alta durante los periodos de brotación de verano y otoño, cuando se observan daños más o menos generalizados en las hojas tiernas. La brotación de primavera, la más importante desde el punto de vista cuantitativo, no es dañada significativamente. Todos los cítricos son atacados por el lepidóptero, pero los limoneros al presentar brotaciones más extendidas en el tiempo soportan ataques más continuos. Inclusive en inviernos benignos, se observan galerías en los brotes surgidos en la parte más interna y protegida de la copa de los limoneros. También, las prácticas de manejo como el riego o la poda, que estimulan la formación de brotes de forma más continua, favorecen el incremento de las poblaciones de la plaga.

En relación a la edad de los árboles, los mayores daños tienen lugar en las plantas más jóvenes las cuales presentan su copa en formación, una intensidad de brotación mayor y acumulan menos reservas. Las infestaciones constantes y generalizadas en las plantas jóvenes y causan alteraciones en su crecimiento y disminución del vigor. Como consecuencia del ataque se puede producir un retardo en la entrada en producción de las plantas así como una merma en la producción total (Argov *et al.*, 1995; Knapp *et al.*, 1995; Albrigo, 1996). Aunque existen diferencias entre los distintos cultivares y entre zonas cítricas, se puede afirmar que en general las plantas maduras sufren en menor grado los daños del minador. Los árboles adultos presentan proporcionalmente una menor brotación y la copa estructurada, sufren menos el ataque de la plaga, logran compensar la disminución del área fotosintética y de esta manera no se vería afectada su producción. En estudios realizados en la zona de Valencia (España), a pesar de que se registró una alta densidad de población de minador y una pérdida de área foliar de aproximadamente el 50% durante las brotaciones de verano y otoño, no se encontraron en el mediano plazo efectos sobre número y diámetro de frutos, ni en los patrones de brotación y floración (García-Marí *et al.*, 2002). La formación de nuevos brotes se concentra en la primavera, por lo que la mayor

parte de la biomasa del árbol no es afectada por el minador. Sin embargo, Peña *et al.* (2000) encontraron una correlación lineal negativa entre el área foliar afectada y el número y peso de los frutos de lima 'Tahití' en las condiciones de Florida.

En Uruguay la incidencia del daño directo del minador en las plantas en plena producción disminuye por la aparición tardía de la plaga. La brotación de primavera, en la cual se producen la mayoría de los brotes del año, prácticamente no es afectada por la plaga. A pesar de que ninguna otra plaga afectó las hojas de los cítricos de forma tan severa, rápida y generalizada, podemos afirmar que los rendimientos no se han visto deprimidos sustancialmente. Aunque no se han realizado evaluaciones económicas precisas, no se ha observado hasta el momento, a más de 10 años desde el ingreso de la plaga, una reducción en el número o el tamaño de los frutos.

Daños indirectos

Además de los daños directos producidos por la alimentación de las larvas, *P. citrella* provoca daños de forma indirecta. La presencia de la plaga puede cambiar la situación de otros fitófagos que ocupan el mismo nicho (Figura 2.9), en algunos casos compitiendo por el mismo recurso, y en otros favoreciendo el aumento de las poblaciones ya que las hojas dañadas se convierten en apropiadas para su desarrollo. En este sentido, los pulgones y moscas blancas podrían competir con el minador por la explotación de las hojas tiernas de los brotes. De cualquier manera, es común encontrar en las hojas atacadas por minador altas poblaciones de pulgones (*Toxoptera* spp., *Aphis spiraeicola*) y elevadas densidades de huevos de *Dialeurodes citrifoli*. Por otro lado, es de destacar que las cochinillas harinosas (Pseudococcidae) se vieron favorecidas al encontrar en las hojas enrolladas por el minador, lugares propicios para refugiarse y desarrollarse.

Asimismo, la lesión producida por las larvas en los tejidos deja expuesto al mesófilo foliar y puede ser una vía de entrada de patógenos. Este daño indirecto es de particular importancia en nuestra citricultura. El cancro cítrico, enfermedad bacteriana producida por *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, se encuentra presente



Pseudocóccido usando la cámara pupal del minador como refugio. También se observan las pupas típicas del parasitoide introducido *Ageniaspis citricola*



Pulgones y huevos de mosca blanca en hojas tiernas dañadas por minador.

Figura 2.9. Algunos ejemplos de otros fitófagos que utilizan el mismo recurso que el minador.

en la mayoría de las zonas de producción de cítricos en el mundo. Conjuntamente con el ingreso del minador en nuevas áreas, se observó un aumento de la incidencia de la enfermedad y un cambio de su patrón de distribución (Gottwald *et al.*, 1997, 2007). Esta interacción entre el insecto y el patógeno se convirtió, sin dudas, en uno de los mayores problemas sanitarios de la citricultura, dejando en un plano muy secundario el daño directo provocado por la plaga.

Aunque los adultos del minador no son vectores eficientes de la bacteria (Belasque Jr. *et al.*, 2005), el daño que produce la larva es relevante en la epidemiología de la enfermedad. La bacteria penetra a los tejidos por aberturas naturales, generalmente a través de los estomas, o por las heridas causadas fundamentalmente por viento. Las heridas que las larvas del minador generan en las hojas constituyen un número importante de nuevas aberturas a través de las cuales el patógeno puede

penetrar al mesófilo de la hoja. La larva al alimentarse, levanta la cutícula lo que facilita la infiltración de agua con bacterias, particularmente cuando se dan condiciones de lluvias y viento. La tasa de infección en las hojas dañadas por las larvas es similar a las de las hojas que presentan lesiones mecánicas (Chagas *et al.*, 2001). Además, la concentración de inóculo necesaria para que se produzca la infección es menor en hojas dañadas por el minador (Christiano, 2003). En las plantas con daño del insecto, los tejidos permanecen susceptibles por más tiempo, el período de incubación de la enfermedad es menor y la severidad de la misma se incrementa (Jesús Jr. *et al.*, 2006). Los daños provocados por las larvas de tercer estadio y las pupas provocan una mayor severidad de la enfermedad comparado con otras formas de penetración (Christiano, 2003).



Figura 2.10. Lesiones de cancro cítrico a lo largo de la galería producida por el minador.

Una vez que la bacteria ingresa a los tejidos, la larva del minador puede contaminarse y trasladar el inóculo, contribuyendo de esta manera a su expansión (Graham *et al.*, 1996; Gottwald *et al.*, 1997). Cuando el proceso de infección se establece, se producen lesiones a lo largo de la mina, las cuales se unen formando grandes áreas afectadas (Figura 2.10), a diferencia de las que se originan por infección estomática que en general son aisladas. Dentro de la galería existen condiciones microclimáticas de temperatura y humedad que favorecen el desarrollo de la bacteria (Chagas *et al.*, 2001). Esta mayor superficie de tejidos de la planta lesionados, se constituiría en una fuente de inóculo más efectiva (Cook, 1988; Graham *et al.*, 1996; Chagas *et al.*, 2001).

Las características de la interacción insecto-patógeno, pueden explicar la mayor incidencia de la enfermedad detectada en algunas regiones cítricas después del ingreso de *P. citrella*.

En Uruguay, el cancro cítrico estaba en proceso de expansión y con la introducción del minador su problemática se agravó. El gran número de heridas que las larvas forman en las hojas y la extensión de las mismas, generaron indudablemente nuevas vías de entrada favoreciendo el desarrollo y propagación de la bacteria. Cuando las condiciones climáticas son propicias para el desarrollo de la bacteria, es común observar galerías de minador completamente cubiertas por lesiones de cancro.

6. Resumen

El minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* es un gracilárido probablemente originario del sudeste asiático.

Tiene como plantas hospederas principalmente a rutáceas del género *Citrus*.

A principios de la década del 90, el insecto manifestó una fase de dispersión muy rápida alcanzando a los continentes americano y europeo. Actualmente se encuentra en todas las zonas cítricas del mundo. En América se lo detecta por primera vez en el año 1993 en el estado de Florida en Estados Unidos. En Uruguay se observó en enero de 1997 en quintas del departamento de Salto en el norte del país, y un mes después ya se la encontró en la zona cítrica sur de forma muy extendida.

Los daños de *P. citrella* son producidos por las larvas en las hojas tiernas de los brotes. Forma galerías muy características, de coloración plateada, sinuosas y serpentiformes. Si las poblaciones son bajas, los tejidos se regeneran, las hojas alcanzan su tamaño definitivo y de esta manera no es afectada su capacidad fotosintética. Sin embargo cuando las poblaciones son altas se puede producir deformación de hojas, deshidratación, necrosis, rotura de tejidos y defoliación. El daño directo de la plaga tiene una mayor incidencia en las plantas en formación, de viveros y montes recién instalados. En los árboles adultos en plena producción, el efecto del insecto es mucho menor.

La herida que las larvas de minador producen en las hojas son aberturas por las cuales el patógeno puede penetrar al mesófilo de la hoja. En las hojas dañadas la concentración de inóculo necesaria para que se produzca la infección es menor, los tejidos permanecen susceptibles por mayor tiempo, el período de incubación es menor y la severidad de la enfermedad es mayor. Cuando el proceso de infección se establece, se producen lesiones a lo largo de la mina, las cuales se unen formando grandes áreas afectadas.

Capítulo III

Biología, ecología y enemigos naturales

1. Biología y comportamiento

Los adultos de *P. citrella* son de hábitos crepusculares y nocturnos, son activos desde el ocaso hasta unas horas antes del amanecer cuando las temperaturas son superiores a 9°C (García-Marí *et al.*, 1994). Durante el resto del día permanecen inactivos en lugares protegidos y sombreados, debajo de las hojas o en el tronco. Se alimentan de néctar. La longevidad de las hembras está muy influenciada por la temperatura, pueden vivir más de 30 días a 15° C y alrededor de 6 a 35° C (Margaix *et al.*, 1998). Soportan bastante bien las bajas temperaturas del invierno sin realizar la puesta. Cuando las temperaturas son nuevamente favorables y las plantas presentan brotes adecuados, logran reanudar su ciclo (Margaix *et al.*, 1998; Ujiye, 2000; Lim y Hoy, 2006). En Uruguay se han observado adultos, huevos y larvas en desarrollo, durante inviernos benignos con temperaturas que permitieron el surgimiento de brotes receptivos.

La cópula se produce entre 12 y 24 horas después de la emergencia de los adultos. El apareamiento es necesario para la puesta (Margaix *et al.*, 1998). Recientemente se han identificado los componentes de la feromona que secreta la hembra para atraer al macho (Leal *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2006). La puesta comienza después de un período variable entre 1 y 3 días dependiendo de las condiciones climáticas (Garrido *et al.*, 1998). La temperatura óptima es de alrededor de 25° C, no logran oviponer tanto a temperaturas bajas de 15° C como altas de 35° C (Margaix *et al.*, 1998). La fecundidad de *P. citrella* es muy variable, claramente influenciada por la temperatura. La fecundidad media encontrada por Margaix *et al.* (1998) fue de 31

huevos por hembra a lo largo de su vida a una temperatura de 20° C y de 70 a 25° C. Además, la humedad relativa alta favorece la puesta y la sobrevivencia de los huevos. Tanto el número de huevos depositados como la eclosión de los mismos es mayor a 70 % de HR (Chagas, 1999).

Las hembras oviponen en hojas tiernas, recién formadas, preferentemente en tamaños que oscilan entre 10 y 25 mm dependiendo de la variedad (Garrido y Gascón, 1995; Chagas y Parra, 2000; Farías y García-Marí, 2002). Los huevos son colocados de forma aislada, en su mayoría a lo largo de la nervadura central (Chagas y Parra, 2000). Tanto el haz como el envés de las hojas son sustratos adecuados. Sin embargo, en las hojas pequeñas menores a 10 mm se encuentra un mayor número de huevos en el envés, probablemente debido que esta zona está más expuesta (Garrido y Gascón, 1995; Farías y García-Marí, 2002).

El insecto presenta un desarrollo ininterrumpido a lo largo del año (Margaix *et al.*, 2000; Lim y Hoy, 2006). El rango de temperaturas entre 18 y 32° C es adecuado para las diferentes fases del desarrollo (Chagas y Parra, 2000). La duración del ciclo de vida es muy variable, oscila entre 11 a 52 días dependiendo de la temperatura (Knapp *et al.*, 1995; Margaix y Garrido, 2000). La eclosión del huevo ocurre entre los 2-10 días. La duración del período larvario es de 5-20 días y el de la pupa es de 6-22 días (Knapp *et al.*, 1995). El desarrollo se favorece con temperaturas relativamente altas, la óptima para el desarrollo embrionario es de 30° C y para el

larval y pupal de 32° C (Chagas y Parra, 2000). Según Chagas (1999) el umbral de desarrollo es de 10,4° C para los machos y 10,7° C para las hembras. La constante térmica calculada con estos umbrales es de 246 y 240 grados-días respectivamente. Utilizando estos parámetros estimamos que en Uruguay el número de generaciones anuales es de 11 a 13 en las condiciones de la zona norte y de 10 a 12 en la zona sur.

La preferencia marcada de las hembras por los tejidos en crecimiento, hace que las hojas de los brotes presenten una proporción diferente de los distintos estados de desarrollo según su posición. Mientras que los folíolos apicales más nuevos contienen una

mayor abundancia de huevos y larvas de primer estadio de desarrollo, en los basales más desarrollados predominan las larvas de tercer estadio, las prepupas y las pupas del minador (Figura 3.1). De la misma manera, la estructura de edades de la población en un brote difiere según el desarrollo de los mismos. En los brotes más recientes con la mayoría de sus hojas pequeñas y tiernas, en proceso de expansión a los cuales denominamos tipo 1 (Figura 3.2), presentan una mayor cantidad de huevos y de larvas pequeñas, sin embargo en los brotes más maduros, donde las hojas basales son tiernas, están expandidas pero no han alcanzado su tamaño definitivo (tipo 2), los estados de desarrollo más avanzados son los más abundantes (Figura 3.3).

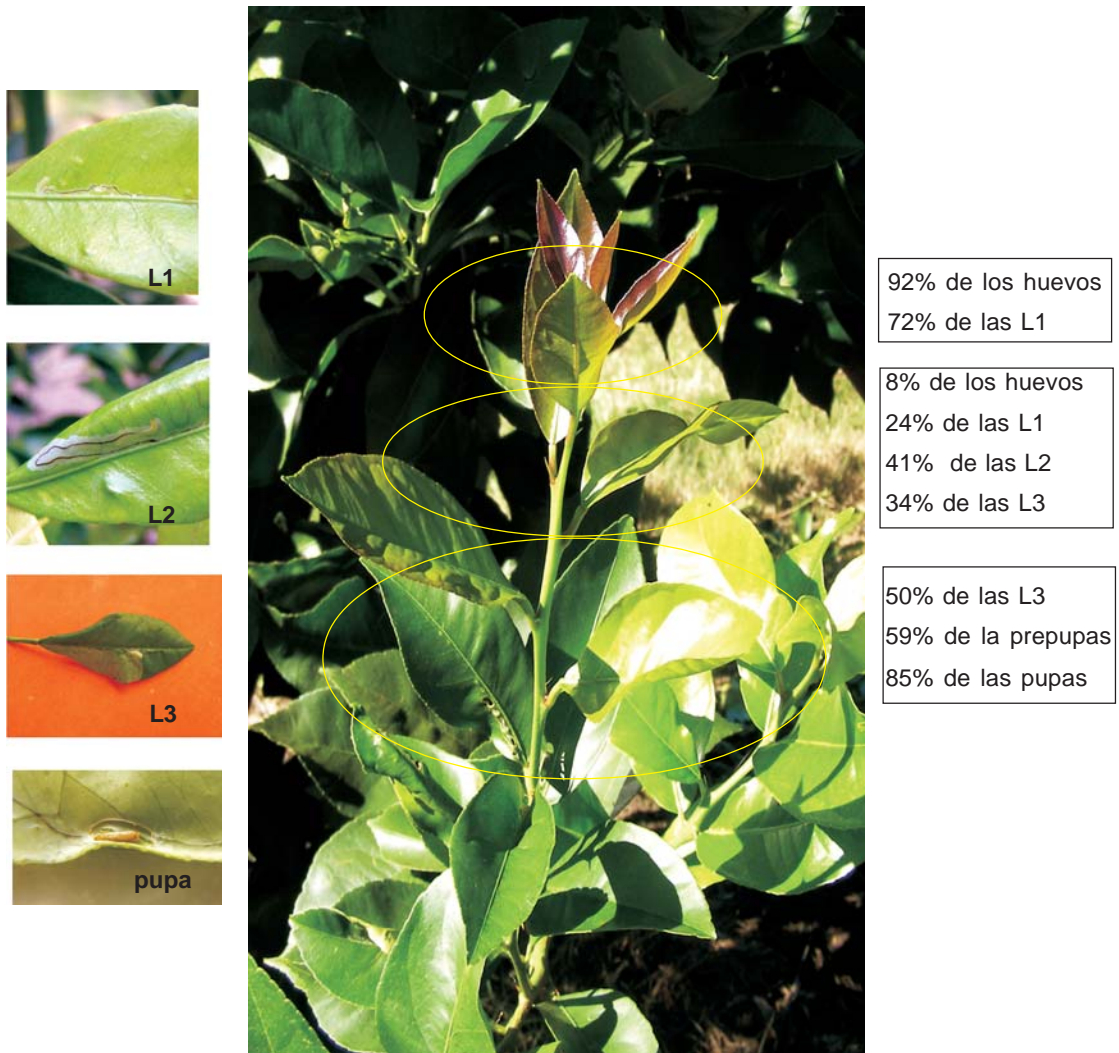


Figura 3.1. Distribución de los estados de desarrollo de *P. citrella* en brotes de limoneros.

Figura 3.2. Brotes de limoneros. Brote tipo 1= la mayoría de las hojas en expansión. Brote tipo 2= hojas basales tiernas, expandidas y que aún no tienen su tamaño definitivo.

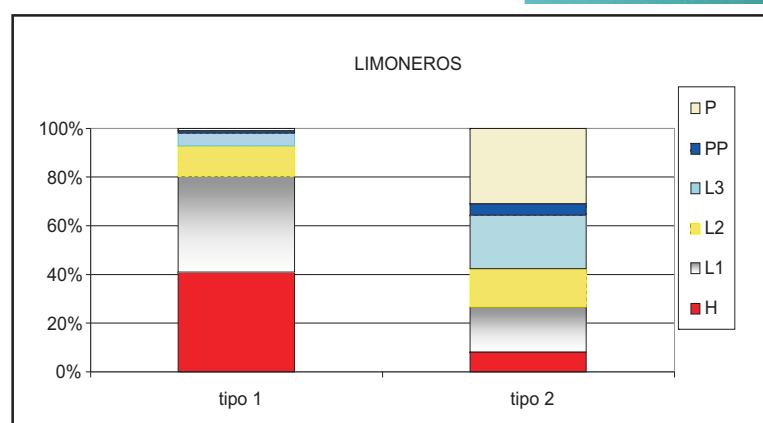
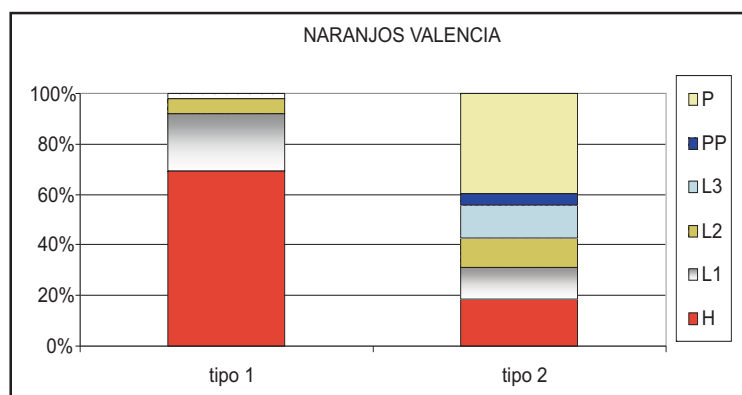


Figura 3.3. Proporción de los distintos estados de desarrollo en brotes de limoneros y naranjos. tipo 1= brote con la mayoría de las hojas en expansión. tipo 2= brote con hojas basales tiernas, expandidas y que aún no tienen su tamaño definitivo.



2. Fluctuación estacional de las poblaciones

La fluctuación estacional de las poblaciones del minador de los cítricos varía en función de la disponibilidad de brotes, recurso imprescindible para su desarrollo, y de las condiciones climáticas imperantes en los períodos de brotaciones. De esta manera, la dinámica de la plaga está fuertemente relacionada con la fenología del cultivo y variará según las especies y cultivares de cítricos, así como con el

manejo realizado, el cual puede o no promover las brotaciones. Aunque la presencia de hojas adecuadas para la puesta indican un potencial desarrollo de la plaga, los factores climáticos, principalmente la temperatura, pueden condicionar el inicio del ataque o la incidencia del mismo.

Durante los meses de invierno, debido a la casi ausencia de brotes y por las bajas temperaturas, se dan las condiciones más desfavorables para el minador. En esta época los adultos no

encuentran hojas adecuadas donde realizar la puesta y sus poblaciones se reducen al máximo. La supervivencia se limita a adultos que logran soportar bastante bien las bajas temperaturas y al desarrollo muy lento de larvas invernantes en los escasos brotes que surgen en las zonas más resguardadas de la copa de los árboles. *P. citrella* no presenta diapausa (Margaix et al., 2000; Lim y Hoy, 2006) y es común observar en los inviernos más benignos, adultos en actividad, huevos y larvas en desarrollo en las hojas tiernas de los pocos brotes disponibles.

Al principio de la primavera la población del minador se encuentra muy reducida. De esta manera, las brotaciones de primavera que son las más abundantes, no son afectadas significativamente por el insecto (Figuras 3.4 y 3.5). Las primeras infestaciones en un sitio en particular pueden provenir de poblaciones residentes

que lograron sobrevivir a las condiciones desfavorables del invierno o por inmigración desde otros, donde las condiciones microclimáticas fueron más propicias.

Las poblaciones de la plaga aumentan ya avanzada la primavera, cuando las condiciones climáticas permiten su desarrollo y multiplicación. La temperatura es un factor importante que condiciona el inicio de los ataques en cada una de las zonas cítricas de Uruguay y en un año en particular. En general, la abundancia del insecto se incrementa a partir de octubre - noviembre en la zona norte, y de noviembre - diciembre en la zona sur, cuando las temperaturas mínimas superan los 15°C (Figuras 3.4 y 3.5).

Durante el verano y el otoño, las poblaciones del insecto pueden aumentar de forma continua dependiendo de la disponibilidad de brotes sensibles, de las condiciones climáticas que favorezcan o limiten su desarrollo y supervivencia, y de la acción de los enemigos naturales. *P. citrella* presenta un alto potencial de incremento debido a su gran capacidad reproductiva y a su corto ciclo de vida. Se estima que el número de generaciones en el período de máxima actividad del minador (noviembre a abril) es de 8-9 y de 7-8 en las zonas norte y sur respectivamente. Las brotaciones que surgen a fines del verano-principios del otoño son potencialmente las más dañadas por el minador (Figura 3.6). Cuando se dan condiciones apropiadas para el desarrollo y la multiplicación del insecto, es usual encontrar la totalidad de los brotes atacados y con la mayoría de las hojas con daño muy severo.

Las altas temperaturas unidas a bajas humedades relativas son condiciones climáticas que pueden limitar la abundancia de las poblaciones, al provocar mortalidad de huevos y principalmente de larvas de primer estadio de desarrollo. Es frecuente encontrar en veranos calurosos, una gran cantidad de larvas muertas, sobre todo en quintas de la zona norte donde las temperaturas pueden superar los 40° C. Otro factor de mortalidad importante son los enemigos naturales, que actúan fundamentalmente durante el verano y el otoño.

Los estudios realizados desde el ingreso de la plaga a nuestro territorio en parcelas sin tratamientos de insecticidas, mostraron que la abundancia del insecto es

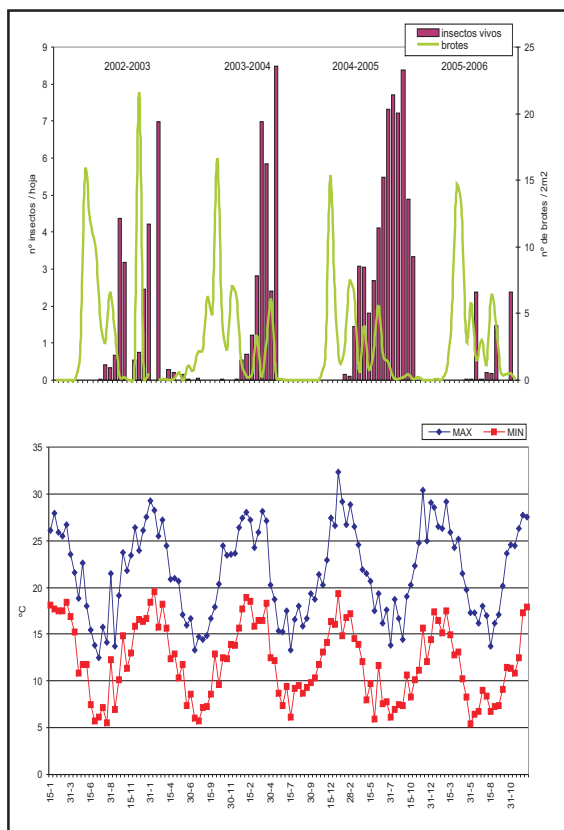


Figura 3.4. Fluctuación de las poblaciones de *P. citrella* en brotes tipo 1 de limoneros en una parcela ubicada en la localidad de Kiyú, Departamento de San José, zona sur de Uruguay. Promedios cada 15 días de las temperaturas mínimas y máximas.

muy diferente según el año y la parcela. Las poblaciones oscilaron entre una media anual de 0,01 a 1,34 insectos/hoja en naranjos adultos ubicados en la zona norte y de 0,39 y 2,89 en limoneros adultos de la zona sur. Las máximas densidades se registraron en otoño en parcelas de la zona sur con más de 12 inmaduros/hoja. En los últimos años se observó, particularmente en la zona norte, un descenso acusado de las poblaciones de *P. citrella* (Figura 3.5). Aunque en alguno de los casos este decrecimiento estuvo relacionado a la ausencia de brotaciones en el verano y otoño, época en que se observan los ataques más severos, es de resaltar que en esta zona en los últimos años, el parasitoide introducido *Agениaspis citricola* logró sobrevivir a las condiciones desfavorables del invierno y produjo importantes parasitismos al final de la temporada.

Figura 3.5. Fluctuación de las poblaciones de *P. citrella* en brotes tipo 1 de naranjos W. Navel en una parcela ubicada en la localidad Colonia Gestido, Departamento de Salto, zona norte de Uruguay. Promedios cada 15 días de las temperaturas mínimas y máximas.

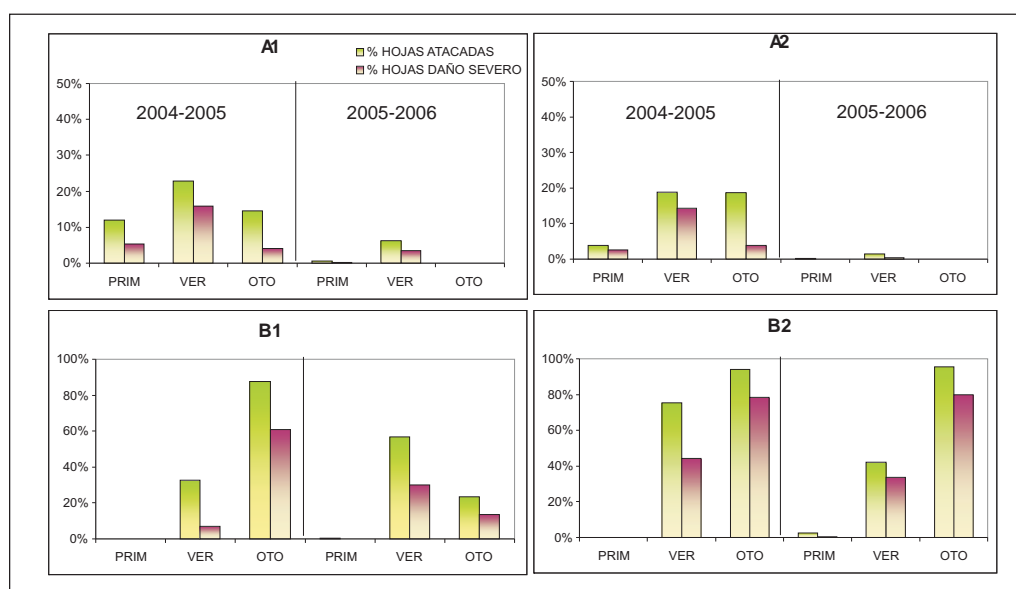
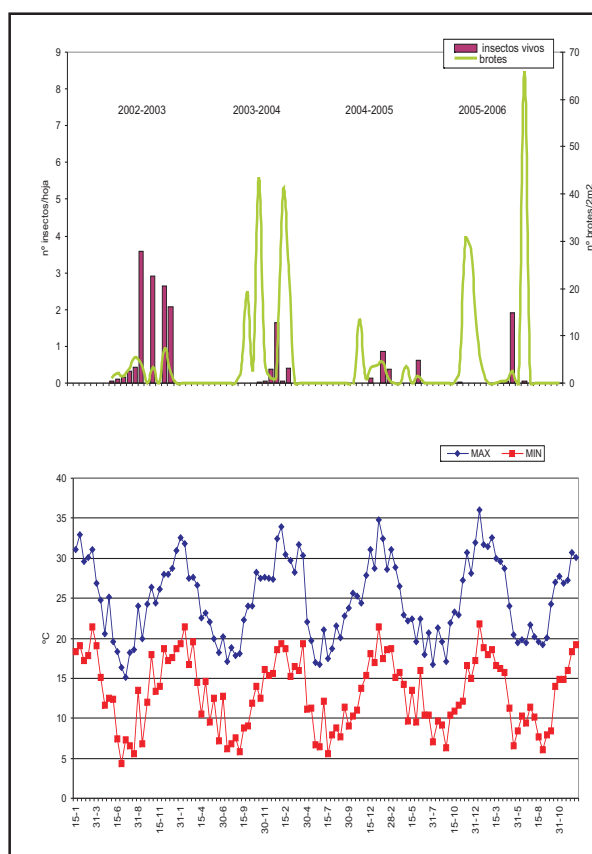


Figura 3.6. Evaluación del daño acumulado al final de cada periodo de brotación. A.- Parcelas en la localidad de Colonia Gestido, Departamento de Salto, A1.- naranjos W. Navel.- A2.- naranjos Valencia. B.- Parcela de limoneros en la zona sur B1.- localidad de Kiyú, Departamento de San José, B2.- localidad de Pajas Blancas, Departamento de Montevideo. Daño severo= >50% del área de una cara de la hoja afectada.

3. Monitoreo de las poblaciones

El control químico de las poblaciones del minador de las hojas de los cítricos en las condiciones de Uruguay, se ha convertido en una herramienta complementaria, pero necesaria en los momentos en que las poblaciones de la plaga se incrementan y causan daños significativos. En plantas jóvenes de viveros o montes recién instalados se aplican insecticidas de forma frecuente debido a los daños directos e indirectos que provoca *P. citrella*. Sin embargo, en las plantas en plena producción el control químico busca suprimir las poblaciones y de esta forma disminuir el efecto indirecto del insecto sobre el cancro cítrico.

Desde el punto de vista del manejo de la plaga es fundamental determinar los momentos oportunos de tratamientos químicos. Los tratamientos se deben dirigir cuando las plantas presenten una intensidad de brotación y una densidad de la plaga que justifique el empleo de insecticidas. El monitoreo debería comenzar al inicio de los períodos de brotación de manera que los árboles presenten la mayoría de los brotes tipo 1 y en las poblaciones del insecto predominen los estados más sensibles a los productos químicos (L1). Como ya señalamos, los brotes de la primavera escapan en gran medida al ataque del minador, los daños más importantes se observan en las brotaciones de verano y otoño y en estos periodos es cuando se deben centrar los muestreos.

Los métodos de muestreo de las brotaciones y de las poblaciones de *P. citrella* utilizados en los trabajos de investigación realizados y los resultados obtenidos con ellos, han permitido que se desarrollen planes de monitoreo que pueden emplearse a nivel de quintas. Para determinar la intensidad de brotación se contabilizan los brotes tipo 1 y tipo 2 encontrados dentro de un marco de 1m² que se coloca en dos lados de la copa de árboles seleccionados al azar dentro del cuadro a evaluar. El número de árboles puede variar entre 10 y 15 dependiendo del tamaño del cuadro a evaluar. La población del

minador se evalúa registrando los insectos inmaduros encontrados en las hojas de brotes tomados al azar (4 brotes/árbol). De esta forma se estimaba el número de brotes/m² y el número de insectos/hoja. Se propone como umbrales de tratamiento la presencia de un mínimo de 20 brotes/m² y de 0,5 insectos/hoja. Estos umbrales, aunque actualmente se siguen ajustando, mostraron ser efectivos en varias situaciones, logrando disminuir drásticamente el número de tratamientos efectuados en relación al manejo tradicional y con similares resultados en la reducción del daño. En algunos casos se pasó de realizar seis o siete aplicaciones anuales en un manejo tradicional a solamente una o dos con los criterios planteados.

La identificación de la feromona que secreta la hembra (Leal *et al.*, 2006; Moreira *et al.*, 2006) y los estudios de campo realizados (Lapointe *et al.*, 2006; Lapointe y Leal, 2007; Stelinsky y Rogers, 2008) sugieren que en un corto plazo se puedan emplear otros métodos prácticos de monitoreo de la plaga. También estos avances pueden llevar al desarrollo de otras técnicas de control, como la confusión sexual (Stelinsky *et al.*, 2008). Si el control biológico y el empleo de otros métodos de manejo muestran ser suficientemente eficientes en la disminución del daño de la plaga, en un futuro el control químico podría convertirse en una medida secundaria, empleada solamente en casos muy puntuales.

4. Enemigos naturales

Principales enemigos naturales en el mundo

El minador de los cítricos presenta un amplio complejo de enemigos naturales que contribuye a la reducción de sus poblaciones. En los últimos años se ha incrementado sustancialmente su número, debido a que durante la rápida y extensa dispersión experimentada por la plaga a nuevas áreas, muchas especies nativas se adaptaron a este nuevo hospedero. Mientras Heppner (1993) cita un total de 39 especies de himenópteros parasitoides en el mundo, Schauff *et al.* (1998) reportan más de 90 especies, lista que se continúa ampliando. Estas especies están incluidas en 6 familias: Eulophidae, Elasmidae, Encyrtidae, Eurytomidae, Eupelmidae, y Pteromalidae.

La amplia mayoría de los parasitoides pertenecen a la familia Eulophidae. Los eulófidos parasitan a insectos que habitan en lugares protegidos como ser agallas, minas, galerías y otros lugares confinados. En general son ectoparasitoides idiobiontes con un amplio rango de hospederos, varios son hiperparasitoides facultativos y unos pocos obligados. Algunas especies se consideran importantes en el control del minador en distintas regiones citrícolas. Los miembros de las otras familias son habitualmente parasitoides raros, con la excepción de *Ageniaspis citricola*, enciértido considerado uno de los principales reguladores de las poblaciones de *P. citrella*.

También los depredadores generalistas como las arañas, crisopas, hemípteros antocóridos, coccinélidos, sírfidos y hormigas, son enemigos naturales que tienen un efecto importante en las poblaciones del minador. La depredación puede ser el factor de mortalidad de la plaga más importante, inclusive mayor que el parasitismo (Elizondo, 1997; Amalin *et al.*, 2002; Urbaneja y Jacas, 2003; Xiao *et al.*, 2007). Sin embargo, en algunos casos se ha observado que la abundancia de las poblaciones de minador no está relacionada a la depredación. Esto se debe probablemente a que estos enemigos naturales son generalistas, se alimentan principalmente de otros fitófagos, y pasan a alimentarse del minador a falta de sus presas habituales (Urbaneja y Jacas, 2003).

El complejo de parasitoides predominante depende de cada región (Cuadro 3.1). En el sudeste asiático, zona de origen del minador, las especies más importantes y abundantes son: *Citrostichus phyllocnistoides*, *Ageniaspis citricola*, *Quadrastichus* sp. y *Cirrospilus ingenuus*, las cuales ejercen un importante papel en el control biológico del minador de los cítricos en la zona tropical y subtropical de Asia (Hoy y Nguyen, 1997; Vercher, 2000). De forma general se puede decir que *A. citricola* se encuentra en las zonas tropicales y subtropicales de Asia, mientras que en las zonas citrícolas más frías predomina *C. phyllocnistoides*.

En relación a los parasitoides que se encuentran en las zonas de la primera fase de dispersión del minador, se destacan en Australia *Semiela cher petiolatus* y *Zaomomentodon brevipetiolatus* (Smith y

Beattie, 1996), en Sudáfrica *Platocharis coffeae*, *Cirrospilus* sp. y *Sympiesis* sp. (Ware y Hattingh, 1996). En algunas zonas de Sudáfrica *C. phyllocnistoides* es una de las especies más abundante (Ware y Hattingh, 1996).

En las zonas colonizadas por el minador en su última fase de expansión, también los eulófidos son los parasitoides más abundantes. En la Cuenca del Mediterráneo la lista de registros es muy amplia y se destacan *Cirrospilus brevis*, *Cirrospilus* sp. pr. *lyncus*, *C. pictus*, *C. vittatus*, *Neochrysocharis formosa*, *Pnigalio* sp., *Sympiesis gregori* (Vercher *et al.*, 1995, 2005; Argov y Rössler, 1996; Verdú, 1996; Siscaro *et al.*, 1997; Schauff *et al.*, 1998; Urbaneja *et al.*, 2000). En Estados Unidos, *Pnigalio minio* es el más abundante en Florida (Peña *et al.*, 1996) mientras que en Tejas se destaca el parasitoide *Zagrammosoma multilineatum* (Legaspi *et al.*, 1999, 2001).

En Sudamérica también la lista de parasitoides es muy extensa (Cuadro 3.1). *Galeopsomyia fausta* es una especie ampliamente distribuida en Méjico, Centroamérica y Sudamérica (Schauff *et al.*, 1998). En la región (Cuadro 3.2), *G. fausta* es el parasitoide autóctono predominante en el estado de San Pablo, Brasil (Costa *et al.*, 1999; Sá *et al.*, 2000; Montes *et al.*, 2001). En el sur de Brasil, *Cirrospilus neotropicus*, *C. floridensis* y *Elasmus phyllocnistoides* son especies relativamente frecuentes (Efrom *et al.*, 2007; Jahnke *et al.*, 2007). Es de destacar que la composición de las especies locales ha variado ante la presencia del parasitoide introducido *A. citricola* (Sá *et al.*, 2000; Jahnke *et al.*, 2007). En Argentina, *C. neotropicus* es el parasitoide nativo más abundante seguido por *G. fausta* (Diez *et al.*, 2006 a). En Corrientes se citan a *C. neotropicus* (= *Cirrospilus* sp. C.) y *Elasmus* sp. como las especies más comunes parasitando *P. citrella* (Cáceres, 1999 a; 2003 b). También, *E. phyllocnistoides* es una especie frecuente (Diez *et al.*, 2006 b).

Enemigos naturales en Uruguay

En el agroecosistema citrícola, comúnmente se encuentra un alto número

Cuadro 3.1. Principales especies de parasitoides de *P. citrella* en distintas zonas del mundo.

EULOPHIDAE				
<i>Chrysocharis pentheus</i> ⁽¹⁾	*	*		
<i>Cirrospilus ingenuus</i> ⁽¹⁾	*	"		
<i>Cirrospilus floridensis</i> ⁽²⁾			*	*
<i>Cirrospilus lycus</i> ⁽¹⁾	*			
<i>Cirrospilus neotropicus</i> ⁽³⁾				*
<i>Cirrospilus phyllocnistis</i> ⁽¹⁾	*			
<i>Citrostichus phyllocnistoides</i> ⁽¹⁾	*	*		
<i>Clostocerus</i> spp. ⁽¹⁾	*		*	*
<i>Elachertus</i> spp. ⁽¹⁾	*	*	*	*
<i>Galeopsomyia fausta</i> ⁽¹⁾			*	*
<i>Horisnemus</i> spp. ⁽¹⁾			*	*
<i>Platocharis coffee</i> ⁽¹⁾		*		
<i>Prigalio minio</i> ⁽¹⁾			*	
<i>Quadrastichus</i> sp. ⁽¹⁾	*	*		
<i>Semiela cher petiolatus</i> ⁽¹⁾		*		
<i>Sympiesis</i> sp. ⁽⁴⁾			*	*
<i>Zagrammosoma americanum</i> ⁽¹⁾			*	
<i>Zagrammosoma multilineatum</i> ⁽¹⁾			*	*
<i>Zaommomentedon brevipetiolatus</i> ⁽¹⁾	*	*		
ELASMIDAE				
<i>Elasmus phyllocnistoides</i> ⁽⁵⁾				*
<i>Elasmus</i> sp. ⁽¹⁾	*	*	*	*
EUELMIDAE				
<i>Eupelmus</i> sp. ⁽¹⁾	*	*		*
ENCYRTIDAE				
<i>Ageniaspis citricola</i> ⁽¹⁾	*			

⁽¹⁾ Schauff *et al.*, 1998.⁽²⁾ Evans, 1999. Jahnke *et al.*, 2005.⁽³⁾ Diez y Fidalgo, 2003.⁽⁴⁾ Schauff *et al.*, 1998; Fernández *et al.*, 1999; Diez y Fidalgo, 2002.⁽⁵⁾ Diez *et al.*, 2006 b.

de especies de hábitos depredadores y varios de éstos seguramente contribuyen a regular las poblaciones de *P. citrella*. Hasta el momento se han observado arañas, larvas de crisopas, trips y el antocórido *Orius* sp. Corrientemente se encuentran alimentándose sobre larvas y pupas de minador, pero no se han observado en grandes poblaciones, inclusive en momentos de elevada abundancia de la plaga. Es común encontrar las galerías vacías o las cámaras pupales con orificios, síntomas del ataque de algún depredador.

La identificación de los parasitoides de Uruguay fue realizada por K. Kamijo, proyecto INIA-JICA. El número de espe-

cies nativas encontradas es reducido (Cuadro 3.2). Solamente se hallaron cuatro especies de eulófidos, de las cuales *Galeopsomyia fausta* La Salle fue colectada únicamente en una oportunidad como adulto en trampas amarillas ubicadas dentro de montes de cítricos en el departamento de Salto. Esta especie está ampliamente distribuida en la región neotropical (LaSalle y Peña, 1997); es común en Brasil y Argentina (Fernández *et al.*, 1999; Montes *et al.*, 2001; Diez *et al.*, 2002; Diez y Fidalgo, 2002; Jahnke *et al.*, 2007). Sin embargo, no se la ha encontrado en Uruguay, atacando directamente a *P. citrella*, a pesar de que se han realizado estudios intensivos de parasitismo en parcelas de

Cuadro 3.2. Especies de parasitoides citados en la región.

	ARGENTINA	BRASIL	URUGUAY
Eulophidae			
<i>Cirrospilus ingenuus</i> ⁽¹⁾	*		
<i>Cirrospilus floridensis</i> ⁽²⁾		*	
<i>Cirrospilus neotropicus</i> (= <i>Cirrospilus</i> sp. C) ⁽³⁾	*	*	*
<i>Cirrospilus</i> sp. o spp. ⁽⁴⁾	*	*	*
<i>Chrysocharis vonones</i> ⁽⁵⁾		*	
<i>Chrysocharis</i> sp. ⁽⁶⁾			*
<i>Galeopsomyia fausta</i> ⁽⁷⁾	*	*	*
<i>Horismenus</i> sp. ⁽⁸⁾		*	
<i>Sympiesis</i> sp. ⁽⁹⁾	*	*	
Elasmidae			
<i>Elasmus</i> sp. ⁽¹⁰⁾	*	*	
<i>Elasmus phyllocnistoides</i> ⁽¹¹⁾	*	*	
Eupelmidae			
<i>Eupelmus</i> sp. ⁽¹²⁾		*	

⁽¹⁾ Fernández *et al.*, 1999.⁽²⁾ Jahnke *et al.*, 2005, 2007; Efrom *et al.*, 2007.⁽³⁾ Cáceres, 1999 a, 2003 b; Costa *et al.*, 1999; Sá *et al.*, 2000; Diez y Fidalgo, 2003; Efrom *et al.*, 2007; Jahnke *et al.*, 2007; Kamijo com. pers.⁽⁴⁾ Montes *et al.*, 2001; Cáceres, 2003 b; Kamijo com. pers.⁽⁵⁾ Efrom *et al.*, 2007.⁽⁶⁾ Kamijo com. pers.⁽⁷⁾ Fernández *et al.*, 1999; Montes *et al.*, 2001; Diez *et al.*, 2002; Diez y Fidalgo, 2002; Jahnke *et al.*, 2006, 2007; Kamijo com. pers.⁽⁸⁾ Costa *et al.*, 1999; Sá *et al.*, 2000.⁽⁹⁾ Fernández *et al.*, 1999; Diez y Fidalgo, 2002; Jahnke *et al.*, 2006, 2007.⁽¹⁰⁾ Cáceres, 1999 a, 2003 b; Costa *et al.*, 1999; Sá *et al.*, 2000; Montes *et al.*, 2001; Diez *et al.*, 2002; Jahnke *et al.*, 2006.⁽¹¹⁾ Diez *et al.*, 2006 b; Efrom *et al.*, 2007; Jahnke *et al.*, 2007.⁽¹²⁾ Costa *et al.*, 1999; Sá *et al.*, 2000.

diferentes variedades, en las dos principales zonas citricolas y desde el ingreso del minador.

Las mismas especies que atacaron a *P. citrella* en el momento de su introducción son las que se han mantenido a lo largo de los años. Inclusive, la abundancia relativa de ellas es básicamente la misma. El parasitoide nativo predominante es *Cirrospilus neotropicus* Diez y Fidalgo. Se comenzó a observar en la zona norte y en la sur, al poco tiempo de la detección del minador en el país en el año 1997. Está ampliamente distribuido en Sudamérica, se encuentra también en Argentina y Brasil (Cuadro 3.2). El adulto es una avispa pequeña, de aproximadamente 2 mm de longitud y de color amarillento. Presenta bandas transversales oscuras en los seg-

mentos abdominales. La diferenciación sexual está bien marcada, las hembras se diferencian fácilmente por la presencia de cuatro bandas abdominales, mientras el macho tiene solo una. Como efecto negativo cabe mencionar que actúa como hiperparasitoide facultativo de *Ageniaspis citricola*.

Además, en la zona citricola sur se colectó otra especie, *Cirrospilus* sp. parasitando a larvas desarrolladas y pupas de minador en limoneros. Es un enemigo natural ocasional que sólo fue encontrado en algunos muestreos. El adulto se diferencia de la especie anterior por su mayor tamaño y la presencia de un diseño verde iridiscente en el tórax. La otra especie identificada, *Chrysocharis* sp. se presenta de forma

esporádica en las dos principales zonas citrícolas. Aparece de manera tardía, colectándose desde marzo a mayo y en general produce parasitismos muy bajos. Parasita larvas, prepupas y pupas. El adulto mide aproximadamente 1,5 mm de longitud y es de coloración oscura con el mesotórax verde metalizado y patas claras.

La acción de estos enemigos naturales nativos no es suficiente para contrarrestar los incrementos de población del minador y disminuir sustancialmente sus daños. Los parasitoides locales son especies oportunistas de hábitos polífagos que habitualmente viven sobre otros hospederos y muestran una escasa sincronía con el minador. Cuando una plaga se introduce en una nueva región, los parasitoides que se encuentran en la zona, se adaptan a la nueva plaga pero estas especies no están fisiológica, fenológica o por comportamiento bien adaptadas al nuevo hospedero, necesitando, en general, mucho tiempo para que estos complejos se estabilicen. A pesar de esto, son un factor de mortalidad de la plaga que es necesario considerar y conservar.

5. Resumen

Phyllocnistis citrella presenta un desarrollo ininterrumpido a lo largo del año. El rango de temperaturas adecuadas para el insecto es bastante amplio, entre 18 y 32° C, siendo las óptimas para el desarrollo entre 30 a 32° C. Se estima que el número de generaciones anuales en Uruguay es de 11 a 13 en la zona norte y de 10 a 12 en la zona sur.

Las poblaciones del minador están restringidas a los tejidos tiernos de los brotes de sus hospederos. Las hembras oviponen en las hojas pequeñas, recién formadas. Esta preferencia por tejidos en crecimiento hace que la abundancia relativa de cada estadio de desarrollo sea diferente según la posición de las hojas en el brote y el tipo de brote. En los folíolos apicales más nuevos predominan los huevos y las larvas de primer estadio (L1), mientras que los basales presentan una mayor proporción de larvas de tercer estadio, prepupas y pupas. Igualmente, la es-

tructura de edades de la población difiere según el tipo de brote. En los brotes más recientes, pequeños, con la mayoría de las hojas tiernas y en proceso de expansión (tipo 1), predominan los huevos y el primer estadio larval.

La fluctuación estacional de las poblaciones muestra una tendencia clara. Durante el invierno se registran las mínimas poblaciones debido a la ausencia casi total de brotes y a las bajas temperaturas. Los brotes que surgen en la primavera son prácticamente no afectados por la plaga. Las poblaciones se incrementan ya avanzada la primavera cuando la disponibilidad de hojas tiernas y las condiciones de temperatura favorecen el desarrollo y reproducción del insecto. El inicio de los ataques se observa en octubre-noviembre en la zona norte y noviembre-diciembre en la zona sur, cuando las temperaturas mínimas superan los 15° C. En general, los mayores daños se registran en las brotaciones de verano y otoño.

Desde el punto de vista del manejo de la plaga es fundamental determinar los momentos oportunos de tratamientos químicos mediante el monitoreo de las brotaciones y de las poblaciones del insecto. Los tratamientos se deben realizar cuando las plantas presenten una intensidad de brotación y una densidad de la plaga tales que justifiquen el empleo de insecticidas. El monitoreo debería comenzar al inicio de los períodos de brotación de verano y otoño, de manera que los árboles presenten la mayoría de los brotes tipo 1 y en las poblaciones de la plaga predominen los estadios más sensibles a los productos químicos (L1).

Desde el ingreso de *P. citrella* al Uruguay una serie de enemigos naturales, depredadores y parasitoides se han adaptado al nuevo hospedero. Sin embargo, la riqueza de las especies parasíticas no ha aumentado a lo largo de los años, como se ha observado en otras regiones. Las especies autóctonas son eulófidos, parasitoides generalistas, idiobiontes y en general producen tasas de parasitismo bajas. *Cirrospilus neotropicus* se mantiene como el parasitoide predominante y solamente otras dos especies: *Cirrospilus* sp. y *Chrysocharis* sp., se han registrado alimentándose del minador de forma muy esporádica.

Amuedo, S.*

Bao, L.*

Asplanato, G.**

*Departamento de Protección Vegetal.
Facultad de Agronomía UDELAR.
Contratado por FPTA.

**Departamento de Protección Vegetal.
Facultad de Agronomía UDELAR.

Capítulo IV

Parasitoide nativo predominante en Uruguay: *Cirrospilus neotropicus* (Hymenoptera: Eulophidae)

Cirrospilus neotropicus pertenece al orden Hymenoptera, familia Eulophidae (Schauff *et al.*, 1998). Es una especie recientemente descrita (Diez y Fidalgo, 2003), antes nombrada como *Cirrospilus* sp. C (Schauff *et al.*, 1998). Es un parasitoide americano que presenta una amplia distribución, se encuentra desde México hasta Argentina (Schauff *et al.*, 1998; Costa, 2000; Ruiz Cancino *et al.*, 2001).

En Uruguay, fue identificado por el Dr. Kamijo en el año 1998 como *Cirrospilus* sp. C. (Scatoni *et al.*, 1999) y confirmada su identificación como *C. neotropicus* por la Dra. Patricia Diez en el año 2004. Es la especie local predominante, se lo observa frecuentemente parasitando al minador en parcelas de las zonas citricolas norte y sur del país.

Las especies del género *Cirrospilus* son ectoparasitoides de insectos minadores y barrenadores de tallos (Naumann, 1991). Se desarrollan como parasitoides idiobiontes, hiperparasitoides facultativos y raramente como obligados (Boucek, 1988; Schauff *et al.*, 1998). En nuestra región, aunque en muy baja proporción, se ha encontrado a *C. neotropicus* parasitando al encírtido introducido *Ageniaspis citricola*.

1. Descripción de las fases de desarrollo

Los adultos presentan una coloración general amarillenta (Figura 4.1). Existe un claro dimorfismo sexual. La hembra posee en el dorso del abdomen cuatro bandas transversales negras, el macho en la misma región tiene una sola banda. Por lo

general el macho es de menor tamaño (1,0 a 1,9 mm) que la hembra (1,2 a 2,3 mm). La oviposición ocurre dentro de las galerías sobre larvas desarrolladas, prepupas y pupas. Preferentemente parasita larvas de tercer estadio. Es un insecto que consume a su hospedero en el lugar y estado en el cual es atacado (estilo de vida idiobionte), en algunos casos provocándole una parálisis permanente al momento de la puesta. Las hembras realizan picaduras alimenticias, lo que se detecta por la presencia de un punto de tejido necrosado sobre el cuerpo de la larva. Este hábito tiene importancia desde el punto de vista del control de la plaga ya que es un factor de mortalidad adicional al parasitismo.

Los huevos son colocados sobre el hospedero o cerca de él. Son cilíndricos de color blanco y aspecto liso (Figura 4.1). Su tamaño varía entre 0,3 y 0,5 mm de largo. En general depositan un solo huevo en cada hospedero, ocasionalmente dos o tres.

La larva neonata es difícil de diferenciar del huevo. Puede moverse hasta la larva del minador cuando los huevos son colocados a cierta distancia de la misma. A medida que transcurre su desarrollo aumenta de tamaño y va cambiando de lugar. Es translúcida y puede observarse en su interior el canal alimentario más oscuro, que ocupa la mayor parte del cuerpo, y se contrae rítmicamente cuando se alimenta (Figura 4.1). El largo de la larva recién eclosionada varía entre 0,4 y 0,8 mm, cuando alcanza su máximo desarrollo



Hembra y macho de *C. neotropicus*. La ♀ presenta cuatro bandas en el abdomen y el ♂ solamente una.



Huevo en una larva del minador de tercer estadio de desarrollo.



Larvas desarrolladas de *C. neotropicus*. Ocasionalmente se ha observado superparasitismo.



Pupa del parasitoides dentro de la galería producida por la larva del minador.

Figura 4.1. Estados de desarrollo de *Cirrospilus neotropicus*.

mide entre 0,8 y 2,3 mm. En este momento comienza a expulsar el meconio y pasa al último estado larvario (prepupa). La prepupa es de coloración blanca opaca y mide entre 0,8 y 2,0 mm. El meconio se observa en su extremo posterior en forma de pequeños cilindros negros agrupados.

Cuando concluye su desarrollo larvario el insecto, pupa dentro de la galería o la cámara pupal del minador (Figura 4.1). La pupa es de tipo libre, inicialmente, es de coloración blanca, posteriormente se oscurece y se torna negra. Alcanza una longitud que varía entre 1,5 y 2,1 mm.

2. Desarrollo y reproducción

La temperatura es el factor abiótico con mayor influencia sobre el desarrollo y reproducción de los insectos. Es por ello que conocer su efecto sobre *C. neotropicus* puede contribuir a determi-

nar su rol en el control biológico del minador de los cítricos.

En estudios realizados en condiciones de laboratorio a una temperatura constante de 25 ± 1 °C y fotoperíodo de 16:8 horas (luz:oscuridad), se evaluó la duración del ciclo de vida, longevidad y fecundidad de hembras provenientes de laboratorio, y proporción sexual de la descendencia.

La duración promedio del ciclo de vida fue de 10,9 días. La fase de huevo fue la más corta, duró 1,8 días. El tiempo de desarrollo de la pupa fue de 6 días y ocupó más de la mitad del ciclo de vida del insecto (Cuadro 4.1).

Los resultados obtenidos para la duración de cada estado de desarrollo son similares a los reportados por Foelkel (2007) para la misma especie. En nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas en la duración del ciclo entre sexos. Esto ha sido reportado para otras especies de *Cirrospilus* tales como, *C. vittatus* (Urbaneja *et al.*, 2002); *C. próximo*

Cuadro 4.1. Duración promedio de los estados de desarrollo de *C. neotropicus* a $25 \pm 1^\circ \text{C}$ y fotoperíodo de 16:8 horas (luz:oscuridad), sobre larvas de *P. citrella*.

Estado de desarrollo	Duración promedio (días) \pm error estándar	% de cada estado en relación al ciclo total
Huevo	1,8 \pm 0,10	16,5
Larva	3,1 \pm 0,12	28,4
Pupa	6,0 \pm 0,18	55,1
Ciclo total (hembra)	11,2 \pm 0,47 a*	
Ciclo total (macho)	10,6 \pm 0,40 a	

* Misma letra indica que no existen diferencias significativas con $p \leq 0,05$.

a *lyncus* (Urbaneja *et al.*, 1999); *C. coachellae* (Guillén *et al.*, 2007).

En general se acepta que un enemigo natural es más eficiente para controlar a su hospedero/presa, cuando su ciclo de desarrollo es comparativamente más breve que el de la plaga (Botto, 2002). El ciclo total de *C. neotropicus* es menor al de *P. citrella*. A 25°C el tiempo de desarrollo del minador de huevo a adulto es de 16 días aproximadamente (Chagas y Parra, 2000; Margaix y Garrido, 2000), lo que indica que podría producirse 1,5 generaciones del parasitoide por cada generación de la plaga.

Las hembras presentaron una longevidad relativamente alta de 28,8 días. Para *C. neotropicus* Foelkel (2007) reporta una media de vida de 16,8 días; mientras que para *C. vittatus* y *C. próximo a lyncus* los valores obtenidos fueron 10,1 y 18,5 días respectivamente (Urbaneja *et al.*, 2001; Urbaneja *et al.*, 2002). Este parámetro es una característica de importancia dado que cuanto más longeva sea una hembra tendrá mayor oportunidad de poner huevos (Jervis y Kidd, 1996).

Los períodos de pre y posoviposición fueron de alrededor de dos días. Algunas hembras comenzaron las posturas el mismo día de emergidas. La fecundidad promedio fue de 28 huevos/hembra a una tasa de 1,2 huevos/día. Estos valores son algo menores a los reportados por Foelkel (2007) para *C. neotropicus*, donde se obtuvo una media de 32,7 huevos/hembra y la tasa de oviposición fue 1,6 huevos/día. En otras especies de parasitoides del minador la fecundidad es superior, para *C. vittatus* y *C. próximo a lyncus* se observó 39,2 y 99,7 huevos/hembra respectivamente (Urbane-

ja *et al.*, 2001; Urbaneja *et al.*, 2002). Mientras que para *Quadrastichus* sp. se registró una media de 340,9 huevos/hembra (Llácer *et al.*, 1998a). En nuestro estudio realizado con hembras provenientes de cría en laboratorio *C. neotropicus* presentó una fecundidad notoriamente inferior a la de otras especies de eulófidos. El origen de las hembras puede tener efecto sobre la fecundidad, Foelkel (2007) encontró que las provenientes de campo fueron significativamente más fecundas que las criadas en laboratorio. En condiciones naturales el número de huevos puestos podría verse incrementado por lo menos en períodos favorables para la reproducción.

Por otro lado, la biología reproductiva de *C. neotropicus* a 25°C parece pobre si se compara con la de su hospedero *Phyllocnistis citrella*, para el cual se observó una fecundidad de 70 huevos/hembra a 25°C (Margaix *et al.*, 1998).

3. Parasitismo

Aunque *C. neotropicus* puede parasitar larvas de segundo (L2) y tercer estadio (L3), prepupas y pupas, completando su desarrollo en estos estados, se constató una marcada preferencia por las larvas de tercer estadio y las prepupas. En los estudios realizados en parcelas de la zona norte y sur, el 15% de las L3 y el 7% de las prepupas de minador se encontraron parasitadas, mostrando diferencias significativas con lo observado en L2 y pupas (1,2% y 4,4% respectivamente).

Los parasitismos medios son variables entre temporadas y zonas. Es común encontrar en la misma temporada, parcelas con altos niveles y otras donde es prácticamente nulo. Igualmente, la misma parcela en años sucesivos muestra porcentajes de parasitismo, notoriamente diferentes (Cuadro 4.2). En general los mayores valores se observan en las parcelas de la zona sur.

Los máximos parasitismos se observan durante las brotaciones de otoño (Figura 4.2). Sin embargo, la mayor disponibilidad de estados parasitables se registró durante verano. En general *C. neotropicus* comienza a actuar tarde en la temporada cuando la población de la plaga ya se ha incrementado sustancialmente. (Asplanato *et al.*, 2004).

Si bien el parasitismo alcanzado por *C. neotropicus* no es suficiente para disminuir los daños provocados por el minador, hay que resaltar que éste es el parasitoide predominante en la zona sur y también en la norte, por lo menos antes de la introducción de parasitoides exóticos, como *Ageniaspis citricola* y *Citrostichus phyllocnistoides* (ver capítulo 6). Además, al ser nativo de esta región se encuentra adaptado a las condiciones de la zona, por lo que no debe dejar de considerarse su contribución al control del minador. Una de las posibles causas del bajo control de minador por parte *C. neotropicus* es la baja fecundidad del parasitoide en com-

paración a la de la plaga. Esto podría llevar a un incremento en la población del minador durante el verano, el cual no sería acompañado por un aumento en los niveles de parasitismo. Por otra parte, se sabe que *P. citrella* no es el hospedero primario de *C. neotropicus*. A pesar de que se han realizado estudios exhaustivos en Uruguay para conocer los otros hospederos del parasitoide, hasta el momento no han sido detectados.

4. Resumen

Cirrospilus neotropicus es una especie recientemente descrita. A nivel mundial es escasa la información que se tiene sobre la biología de este parasitoide que permita evaluar su efectividad como regulador de las poblaciones del minador. Con los estudios realizados se obtuvo una base de conocimientos de su biología, comportamiento y parasitismo, como un primer aporte a la evaluación del insecto en las condiciones de Uruguay. Una característica positiva es que la duración del ciclo de vida del parasitoide a 25° C fue menor que el de su hospedero *P. citrella* a la misma temperatura. Presentó una longevidad mayor que la reportada en otras especies de parasitoides del mismo género. El hábito de realizar picaduras alimenticias que posee esta especie, representa un factor de mortalidad adicional al parasitismo. Sin embargo, como aspecto negativo se observó que la fecundidad de *C. neotropicus*

Cuadro 4.2. Parasitismo (media e intervalo de confianza al 95%) de *Cirrospilus neotropicus* en parcelas de las zonas norte y sur durante dos temporadas 2004-2005 y 2005-2006. Se asumió distribución binomial de la variable con función de enlace logit.

		2004-2005			2005-2006		
Zona norte		Li	Ls		Li	Ls	
San Antonio	Naranjos	0,98	0,41	1,79	0,43	0,00	1,88
	Valencia						
Colonia Gestido	Naranjos W.	12,37	10,41	14,49	2,47	0,86	4,86
	Navel						
Colonia Gestido	Naranjos	12,07	9,99	14,32	3,21	1,87	4,89
	Valencia						
Zona sur							
Kiyú	limoneros	13,10	11,69	14,58	24,02	21,64	26,48
Pajas Blancas	limoneros	0,54	0,18	1,07	15,25	13,46	17,13

a 25° C fue menor a la mitad de la reportada para el minador.

Habitualmente el parasitoide comienza a registrarse tarde en la temporada, cuando las poblaciones de *P. citrella* ya se han incrementado. El porcentaje de parasitismo es variable dependiendo de la parcela y el año. En general, los máximos se observan en las parcelas de la zona sur. A pesar de los altos parasitismos registrados en

algunos casos durante las brotaciones de otoño, *C. neotropicus* no logra disminuir sustancialmente el daño del minador. De cualquier manera, está adaptado a nuestras condiciones, se mantiene como el parasitoide local predominante, y en algunas parcelas en algunos años es la única especie registrada. Por lo anterior consideramos que es un factor de mortalidad de las poblaciones del minador que es necesario conservar.

Capítulo V

Control biológico aplicado

1. Introducción

El minador de las hojas de los cítricos es una plaga de gran complejidad en su manejo. Los hábitos minadores, la asociación con tejidos en crecimiento, el ciclo de desarrollo corto con gran superposición de generaciones, son características que influyen en la efectividad del control químico. Además, el uso de insecticidas poco selectivos trae asociado riesgos ecológicos que se pueden manifestar a corto, mediano o largo plazo. Esto es de particular importancia en el agroecosistema cítrico el cual posee una gran cantidad de insectos y ácaros fitófagos, y las poblaciones de muchas de estas especies se mantienen bajas por la presencia de una muy rica entomofauna benéfica. Por otro lado, otras medidas de control como podas, fertilizaciones y riegos, son prácticas culturales que buscan concentrar las brotaciones en momentos donde la actividad del minador es menor, pero que en algunos casos no son aplicables a nuestras condiciones. En esta situación el control biológico aparece como la herramienta más apropiada a desarrollar y un componente imprescindible del manejo integrado de *P. citrella*.

Aunque casi simultáneamente al ingreso del minador al país, se observaron parasitoides nativos que se adaptaron al nuevo hospedero, el control ejercido por éstos no disminuye sustancialmente las poblaciones de la plaga. En general se necesita mucho tiempo para que estos complejos se integren y estabilicen. *Cirrospilus neotropicus*, el parasitoide nativo predominante en nuestra zona, se muestra como un buen auxiliar natural en la regulación de las poblaciones del minador en determinadas condiciones, pero los parasitismos obtenidos son muy variables a lo largo del año, entre años, localidades y aun parcelas en un mismo predio (Aspla-

nato *et al.*, 2004, 2008). El efecto de este parasitoide en forma aislada, no es suficiente para disminuir los daños provocados por la plaga, sobre todo considerando su influencia en el aumento del cancro cítrico.

Cuando una plaga se introduce a una nueva región el método que ha mostrado una mayor eficacia y a su vez el más económico es el «control biológico clásico», o sea la importación de enemigos naturales procedentes de la zona originaria de la plaga. Una diferencia importante entre control químico y biológico es que los enemigos naturales se auto-perpetúan y auto-dispersan. Estas características hacen que la estrategia sea sustentable y más económica a largo plazo comparada con cualquier otro método (Van Lenteren *et al.*, 2003). Sin embargo, la introducción y liberación de organismos exóticos puede provocar efectos directos e indirectos sobre otros organismos, riesgo ecológico que no debemos ignorar (Howarth, 1991; Greathead, 1997; Van Lenteren *et al.*, 2003)

En un programa de control biológico clásico un primer paso es conocer los enemigos naturales en la zona de origen y en las áreas de expansión, sus características biológicas y eficiencia en el control de la plaga. El siguiente paso importante y crucial es la selección de especies a ser importadas. En este sentido existen dos criterios: el reduccionista y el holístico (Waage, 1990) ampliamente discutidos por distintos autores.

El criterio reduccionista se basa en la selección de la especie considerada más eficiente basándose en sus atributos biológicos particulares: alto grado de especificidad, alta capacidad de

búsqueda, alta dispersión, sincronización estacional con la plaga, ciclo de desarrollo más corto, rápida respuesta numérica, presentar el hábito de efectuar picaduras alimenticias sobre sus hospederos y adaptación a las condiciones del habitat. Muchas veces no se tienen conocimientos detallados de los enemigos naturales de la plaga y la realización de los estudios necesarios para evaluar los parámetros biológicos puede requerir un tiempo que no es compatible con la rapidez con que se deben tomar las decisiones de control de una plaga.

El criterio holístico toma en cuenta, no tanto los atributos de cada especie, sino las posibles interacciones entre los agentes introducidos y los factores de mortalidad de la plaga en el nuevo ambiente, entendiendo esto como procesos dinámicos. Idealmente se busca reconstruir las comunidades, introduciendo todo el complejo de enemigos asociados a la plaga en su zona de origen, buscando que los distintos enemigos naturales se complementen en su acción. Sin embargo, no siempre es posible realizar dicha reconstrucción en forma total.

Un aspecto importante a considerar cuando se aplica este criterio, es que cuando se introduce una nueva especie para complementar el control biológico ejercido por otra, los resultados pueden ser positivos o negativos. Como efecto negativo puede darse que el nuevo enemigo natural sea un mejor competidor y produzca el desplazamiento competitivo del anteriormente establecido. Otra situación no deseable es que se produzca una interacción negativa entre las especies de enemigos naturales. Esto podría provocar que el insecto introducido fracase en establecerse o se genere una relación de equilibrio inestable con la plaga la cual puede en algunos momentos escapar al control (Botto, 2002).

La cuestión de liberar varias especies de parasitoides simultáneamente o una secuencia de ellas, sigue siendo objeto de discusión ya que es difícil de predecir el comportamiento o como interactuarán en su nueva área.

Cualquiera sea el criterio adoptado, las especies introducidas no deberían tener efectos sobre otros organismos, reducir la biodiversidad o eliminar especies nativas (Howarth, 1991). En este sentido se debe evitar introducir enemigos naturales que tienen un amplio rango de hospederos. La información disponible sobre los hospederos de la mayoría de las especies que parasitan al minador así como de su habilidad como hiperparasitoides es escasa, y esta información es crítica para la evaluación del riesgo de implementación de programas de control biológico clásico. Aunque el hábito de parasitar a otros parasitoides es una característica negativa, el rol de los hiperparasitoides facultativos es también un punto controversial.

De cualquier manera, no se puede determinar a priori si el enemigo natural introducido se establecerá y controlará efectivamente a la plaga en la nueva zona (Ehler, 1998). El establecimiento de un enemigo natural en su nuevo ambiente puede fallar por muchas razones. Las condiciones climáticas no adecuadas en el nuevo ambiente, la falta de otros requisitos esenciales para el establecimiento de la especie y el proceso de cría en laboratorio que puede provocar pérdida de la efectividad por cambios genéticos, de comportamiento, etc., son algunas de las principales causas de los fracasos en los programas de control biológico clásico.

2. Algunas experiencias de control biológico en el mundo

La especies de parasitoides consideradas más importantes y efectivas en la zona de origen se la plaga: *Ageniaspis citricola*, *Citrostichus phyllocnistoides*, *Cirrospilus ingenuus* y *Quadrastichus* sp., se han utilizado en control biológico con resultados variables (Neale *et al.*, 1995; Smith y Hoy, 1995; Argov y Rössler, 1996; García-Marí *et al.*, 1997, 2004; Hoy y Nguyen, 1997; Siscaro *et al.*, 1997; Willink *et al.*, 1998; Parra, 2000; Vercher *et al.*, 2000; Argov, 2003; Cáceres, 2003 a). Entre éstas se destaca *A. citricola*, encírtido que ejerce un buen control contra el minador en la zona de origen y que se ha introducido en prácticamente todas las regiones cítricas para el control del minador. Con res-

pecto a *Cirrospilus ingenuus* y *Quadrastichus* sp., aunque se importaron y liberaron en varios países, presentan hábitos hiperparasíticos por lo que no son buenos candidatos para control biológico clásico (Hoy y Nguyen, 1997).

Otros parasitoides que han ido adaptándose al nuevo hospedero a medida que el minador ha colonizado nuevas áreas, también se han introducido en otras regiones cítricas. El eulófido *Semiolacher petiolatus*, especie procedente de Australia se ha introducido en la región del Mediterráneo y se ha logrado aclimatar en Italia, Israel y Túnez (Argov y Rösler, 1996; Mineo *et al.*, 1998; Argov, 2003; Braham *et al.*, 2006). En España no ha logrado establecerse en la Comunidad Valenciana, aunque se encuentra adaptado en las Islas Baleares, Andalucía (Vercher, 2000) y en Málaga (Marquez *et al.*, 2003). En Florida (EUA) se han realizado estudios de evaluación preliberación de *S. petiolatus* en cuarentena (Lim y Hoy, 2005; Lim *et al.*, 2006). Se observó que este parasitoides no discrimina entre hospederos parasitados y no parasitados por *A. citricola*, lo que podría

afectar la eficacia de este último que ya está establecido en la región. También el eulófido *Galeopsomyia fausta*, originario de Sudamérica, se ha utilizado en programas de control biológico clásico. Se importó en España pero no se estableció (Llácer *et al.*, 1998b, 2005).

Como ya se señaló, el encírtido *A. citricola* ha sido el más utilizado en programas de control biológico en las distintas regiones cítricas. Se introdujo en Australia, Florida, Chile, Perú, Argentina, Brasil, Israel, España, Italia, Grecia, Chipre, Siria, Túnez y Turquía (Neale *et al.*, 1995; Smith y Hoy, 1995; Argov y Rössler, 1996; García-Marí *et al.*, 1997; Hoy y Nguyen, 1997; Siscaro *et al.*, 1997; Willink *et al.*, 1998; Parra, 2000; Vercher *et al.*, 2000 ; Argov, 2003; Cáceres, 2003 a).

A. citricola (Figura 5.1) es un endoparasitoides de huevos y larvas de primer estadio, con estrategia koinobionte, es decir permite que el hospedero continúe su desarrollo. Mata al huésped cuando se encuentra en la etapa de prepupa (Knapp *et al.*, 1995). Posee los



Ageniaspis citricola, adulto.



Pupas del parasitoides dentro de la cámara pupal del minador. *A. citricola* es una especie poliembriónica.



Adultos emergiendo.

Figura 5.1. *Ageniaspis citricola*, encírtido altamente eficiente en el control de *P. citrella*.

atributos de un enemigo natural considerado altamente eficiente: es específico, tiene una buena sincronía con su hospedero y presenta alta capacidad reproductiva, de dispersión y de búsqueda. Se reproduce por poliembrionía y es capaz de producir de 1 a 10 individuos por hospedero (Edwards y Hoy, 1998). Las pupas se encuentran alineadas dentro de la cámara pupal del minador y se diferencian sin dificultad de las de otros parasitoides. Sin embargo, tiene algunas características que pueden estar afectando su adaptación y su efectividad en nuestras condiciones. Es un pobre competidor en comparación con los ectoparasitoides idiobiontes y tiene varias especies de hiperparásitos, *Cirrospilus neotropicus* (= *Cirrospilus* sp. C). es una de ellas (Cáceres, 2003 b). *A. citricola* está adaptado a zonas tropicales y subtropicales húmedas (Hoy y Nguyen, 1997), necesita una humedad relativa alta, mayor al 80% (Vercher, 2000). Los adultos son de vida corta y la longevidad está muy afectada por la humedad ambiental. En estudios realizados en laboratorio solamente sobreviven más de un día cuando la humedad relativa es superior a 95% (Edwards y Hoy, 1998). Además, las temperaturas extremas provocan una alta mortalidad en sus poblaciones. El invierno en nuestra región, podría ser un factor limitante en su adaptación y eficiencia, al encontrarnos en la zona más austral de la distribución de la plaga. Las condiciones climáticas durante el invierno pueden afectar directamente al parasitoide, o también indirectamente al alterar la sincronía entre la planta, el hospedero y el enemigo natural, al no haber brotes adecuados durante períodos relativamente prolongados.

En muchas regiones cítricas *A. citricola* ha logrado aclimatarse y ejerce un buen control del minador. En Brasil fue importado en 1998 de Florida (EUA) y se adaptó a las condiciones climáticas del estado de San Pablo, y logra altos parasitismos principalmente en las zonas más húmedas (Parra *et al.*, 2001). Es considerado uno de los factores claves de mortalidad que actúan sobre las poblaciones del minador (Lioni y Civindanes, 2004). En el noroeste argentino, aparentemente se in-

trodujo de forma fortuita (Diez *et al.*, 1999; Fernández *et al.*, 1999). A pesar de esto, se realizó una reintroducción con especímenes provenientes de Perú, y se comenzó la cría masiva en la Estación Experimental Agroindustrial «Obispo Colombes» en Tucumán. Se realizaron liberaciones en todas las zonas cítricas del noroeste (Willink *et al.*, 1999), en Corrientes (Cáceres, 1999 a,b; 2003 a) y en Entre Ríos (Putruele, 1999; Putruele y Petit Marty, 1999). En el noroeste argentino *A. citricola* está establecido y logra alto parasitismo sobre todo en las zonas más húmedas de las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy. Esta especie aparece como un importante regulador de las poblaciones del minador en estas áreas cítricas (Zaia, 2004).

En Florida (EUA), este parasitoide se introdujo y se dispersó rápidamente, se estableció, logra pasar el invierno y produce importante parasitismo (Pomerinke y Stansly, 1998; Hoy *et al.*, 2007). Sin embargo, probablemente debido a la ocurrencia de primaveras secas en algunos años, no reduce las poblaciones de minador a partir del segundo flujo de brotaciones, aunque sí se produce un aumento del parasitismo y una disminución de los daños durante el otoño. Ante esta situación han evaluado la posibilidad de introducción de otras especies como *Semiolachar petiolatus* (Hoy *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2006) y *Citrostichus phyllocnistoides*.

En Australia, aunque *A. citricola* se adaptó y produce importantes porcentajes de parasitismo en la región de Queensland, en los estados del sur no se aclimató (Neale *et al.*, 1995).

En España, *A. citricola* se liberó durante tres años consecutivos y a pesar de que se recuperó rápidamente y a grandes distancias del punto de liberación, no logró pasar el invierno en la península (Vercher, 2000; Vercher *et al.*, 2000; García-Marí *et al.*, 2004). Solamente se ha logrado establecer de forma permanente en las islas Canarias con un clima subtropical, donde se presentan temperaturas más altas durante el invierno lo que permite brotaciones más continuas (Vercher *et al.*, 2000; García-Marí *et al.*, 2004). En otros países mediterráneos también se han reportado fallas en su establecimiento. En Israel (Argov, 2003) y en Túnez (Braham *et al.*, 2006) el

parasitoide no se adaptó, debido probablemente a que la humedad es baja y/o a las bajas temperaturas del invierno.

Con respecto a *C. phyllocnistoides* (Figura 5.2) es considerado el parasitoide predominante en la India, China, Taiwan y las islas del sudeste de Japón (Ujiye and Adachi, 1995; Tan y Huang, 1996; Tze-Kann and KweiShui, 1998; Urbaneja, 2001; Ujiye, 2000; Vercher, 2000; Wang *et al.*, 2006). En China es el que presenta la mayor sincronía y simpatria con *Phyllocnistis* (LianDe *et al.*, 1999). Es un ectoparasitoide solitario que presenta nichos diferentes a *A. citricola*, parasita larvas de segundo y tercer estadio, con una preferencia marcada por las más desarrolladas. Su estrategia es idiobionte, detiene el desarrollo de su hospedero y pupa dentro de la galería de la larva. Su ciclo a 25° C es de 12 días (Argov y Rossler, 1996). Las condiciones óptimas para el desarrollo son de

20-30° C y más de 60% de humedad ambiental (Vercher, 2000). Presenta un umbral de desarrollo de 9,8° C y una constante térmica de 21° C (Urbaneja *et al.*, 2003). Estudios realizados en Australia han mostrado una alta especificidad, no parasitó a ninguna de las especies estudiadas (Neale *et al.*, 1995), Sin embargo, en Italia se ha hallado sobre dos especies de lepidópteros minadores de la familia Nepticulidae sobre lentisco, *Pistacia lentiscus* (Anacardaceae), y sobre zarzamora, *Rubus ulmifolius* (Rosaceae) (Massa *et al.*, 2001). Recientemente se citan a los minadores *Cosmopterix pulcherimella* sobre *Parietaria difusa* y *Liriomyza* spp. asociada a *Mercuarialis annua* como hospederos alternativos que favorecerían el mantenimiento y sobrevivencia del parasitoide (Rizzo *et al.*, 2006).

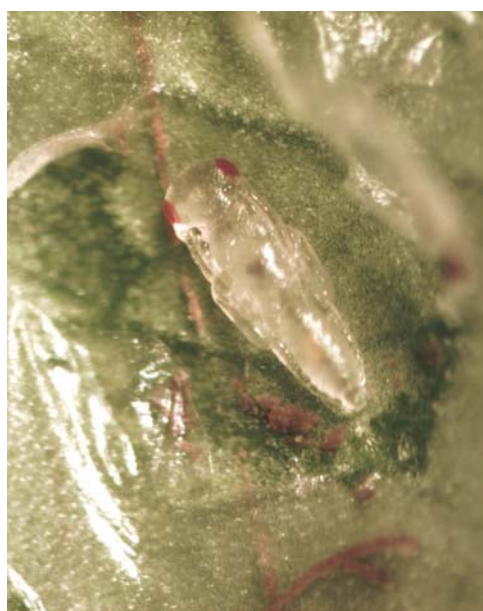
En España, *C. phyllocnistoides*, que a priori no parecía ser muy prometedor, mostró tener la capacidad de pasar el invierno, produce parasitismos elevados y en las parcelas donde predomina, logra reducir significativamente los daños. Además, manifiesta una gran capacidad de dispersión (40 km en tres meses). Actualmente se ha convertido en la especie predominante en todos los cítricos de la



Adultos de *Citrostichus phyllocnistoides*.



Pupa madura. Los excrementos son depositados en forma semicircular.



Pupa recientemente formada dentro de la galería de minador.

Figura 5.2. *Citrostichus phyllocnistoides*, parasitoide eficiente en el control de *P. citrella* en algunas regiones.

península ibérica, desplazando a las especies nativas. El nivel de parasitismo aumentó considerablemente y los daños disminuyeron a niveles de aproximadamente la mitad (Vercher *et al.*, 2000; García-Marí *et al.*, 2004).

C. phyllocnistoides se introdujo también en Italia (Mineo *et al.*, 2001) e Israel (Argov, 2003) donde logró adaptarse. En Israel, es el parasitoide dominante y en conjunto con otros (*S. petiolatus* y *C. ingenuus*) ha aumentado significativamente los niveles de para-

sitismo globales (Argov, 2003). En Australia no logró adaptarse probablemente por la competencia con la especie nativa *S. petiolatus* (Smith y Beattie, 1996). También se introdujo en Tucumán, Argentina (Willink *et al.*, 2002), donde se implementó un programa de cría y liberaciones en la región del noroeste argentino. Después de tres años, donde se liberó una gran cantidad de individuos en las diferentes zonas con condiciones climáticas diferentes, no se logró recuperar en campo. Concluyeron que *C. phyllocnistoides* no logró aclimatarsse a las condiciones de la región.

Buenahora, J.*

Rubio, L.**

*Protección Vegetal - Entomología Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA - Salto Grande. Salto, Uruguay.

**Protección Vegetal - Entomología. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria. INIA - Salto Grande. Uruguay. Contratada por Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria.

Capítulo VI

Control biológico clásico en Uruguay

Como se señaló anteriormente (capítulo 3), el control del minador de los cítricos a través de los enemigos naturales autóctonos no es suficiente en nuestra región, por lo cual se implementó un programa de control biológico clásico. En cualquier estrategia de manejo de la plaga se debe tomar en cuenta al control biológico aplicado y la factibilidad de introducir a nuevos agentes. Éste es un aspecto esencial a considerar, sin descuidar el control ejercido por los enemigos naturales nativos.

En un principio se utilizó un criterio reduccionista y se puso énfasis en la introducción del encírtido *Ageniaspis citricola*, especie considerada una de las más eficientes en regular las poblaciones del minador y de amplia utilización en programas de control biológico clásico en distintas regiones en los últimos años (ver capítulo 5). En muchas regiones donde se introdujo logró reducir significativamente los daños de la plaga, y consecuentemente podría tener beneficios indirectos al disminuir la severidad del cancro cítrico. En nuestro caso, inicialmente el parasitoide mostró dificultades de adaptación y sobrevivencia a las condiciones invernales, así como de efectividad en el control de la plaga. Ante esta situación, se decidió la introducción de otra especie, el eulófido *Citrostichus phyllocnistoides*. Este parasitoide, además de ser uno de los más eficientes en la zona de origen del minador, tuvo buenos resultados en programas de control biológico clásico en otras regiones del mundo.

1. Introducción y liberación de *Ageniaspis citricola*

En Uruguay *A. citricola* se importó en cuatro temporadas consecutivas. Se intro-

dujo en los años 2000 y 2001 desde la Estación Experimental Obispo Colombes, Tucumán, Argentina y en los años 2002 y 2003 desde la Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Piracicaba), Brasil.

Antes de realizar las liberaciones, en cada predio se seleccionaron al menos tres hectáreas de monte que contemplaran las condiciones mínimas para la supervivencia del enemigo natural. Se planteó como requisito que no recibirían tratamientos con insecticidas, a excepción de aplicaciones de aceite para el control de cochinillas y cobre para enfermedades. Para determinar los momentos de las sueltas, se constató la presencia de minador en los estadios adecuados para el parasitoide.

Se liberaron pupas maduras de *A. citricola*, próximas a la emergencia de los adultos. Las hojas con las pupas se colocaron envueltas en papel absorbente dentro de bolsas de nylon con autocierre. El objetivo del papel era evitar excesos de humedad que pudieran afectar la emergencia del insecto. Las bolsas se situaron en el centro de cada cuadro seleccionado como sitio de liberación y se mantuvieron abiertas en dos de sus extremos mediante palillos de madera, para facilitar la salida de los adultos (Figura 6.1).

Luego de las liberaciones, se realizaron evaluaciones quincenales para determinar si el parasitoide lograba reproducirse y dispersarse.

En el primer período (1999-2000), las liberaciones se efectuaron en el norte y sur del país (Buenahora *et al.*, 2001). Se realizó una sola suelta de 1000 individuos por sitio, tardíamente en marzo. Aunque durante ese otoño se recuperó



Figura 6.1. Método de liberación de *Ageniaspis citricola*

al parasitoide en todas las parcelas, en ninguna de ellas se lo encontró después del invierno.

La segunda introducción se realizó en diciembre del año 2000, y en esta ocasión se efectuaron dos a tres liberaciones de 1000 individuos por punto, separadas un mes entre sí, en ambas regiones del país. Durante esta temporada (2000-2001) se constató su presencia en todos los sitios. Los parasitismos registrados fueron bajos en las parcelas del norte, mientras que en el sur se alcanzaron altos porcentajes. Al inicio del otoño casi el 90% de las pupas de minador estaban parasitadas.

En el siguiente período (2001-2002), sin que se efectuaran liberaciones adicionales, se observaron porcentajes significativos de parasitismo en la parcela de la zona sur del país, originados a

partir de los individuos que pasaron el invierno. También, se observó una dispersión generalizada de *A. citricola*, siendo detectado a más de 400m del sitio original de liberación. Aunque los resultados fueron alentadores, ese invierno fue particularmente benigno, por lo que persistió la duda en cuanto a la capacidad del parasitoide de poder sobrevivir condiciones más severas, con temperaturas más bajas.

Por otra parte, en esa misma temporada 2001-2002, se importaron parasitoides desde Brasil en los meses de febrero y marzo. En esta oportunidad las liberaciones se centraron en la zona sur. La estrategia, fue realizar las sueltas en un mayor número de sitios, de modo de cubrir grandes áreas y de esta manera aumentar las probabilidades de éxito. En el norte se concentraron en un solo predio, subdividido en 25 sitios. En todos los casos, se efectuó una sola liberación en cada punto con aproximadamente 400 individuos, totalizando cerca de 60.000 parasitoides en todo el período. En la mayoría de las parcelas se logró recuperar a *A. citricola* hasta tres y cuatro meses después de su liberación (fines de otoño), momento a partir del cual las condiciones climáticas se vuelven desfavorables tanto para la plaga como para su enemigo natural.

En el período 2002-2003 se introdujeron nuevamente desde Brasil aproximadamente 50000 individuos, muy temprano a partir del mes de octubre. En esta temporada las liberaciones se centralizaron en la zona norte, en predios citrícolas de Paysandú y Salto. Se realizaron varias

sueltas por punto con 300 a 500 parasitoides cada una. Desde el mes de diciembre se recuperó al insecto en la mayoría de los sitios. En algunos casos, se observaron porcentajes de parasitismo altos, de aproximadamente 70% al comenzar el otoño del año 2003. De todas maneras estos valores mostraron una importante variabilidad entre áreas, los máximos se registraron en la zona de Espinillar, en el norte del departamento de Salto.

A partir de la primavera del año 2003 se realizaron liberaciones con parasitoides provenientes de la cría de INIA-Salto Grande. Estas se efectuaron en el norte del país, en dos predios citrícolas, uno ubicado en Constitución, departamento de Salto y otro en Constanica, departamento de Paysandú. En ambos sitios se habían realizado sueltas durante períodos anteriores, no existiendo hasta ese momento información concluyente de que el parasitoide hubiera pasado allí el invierno. Esta vez se hizo énfasis en distribuirlo desde el comienzo de la primavera, con el propósito de mejorar sus posibilidades de búsqueda, dispersión y establecimiento. En cada predio se seleccionaron 25 puntos, realizándose en Constitución una única suelta de 300 parasitoides en cada uno, mientras que en Constanica se hicieron varias liberaciones. Si bien en todos los casos se recuperó *A. citricola*, en Constitución logró parasitismos muy altos en verano y a mediados de otoño. De todas maneras, un escaso régimen de precipitaciones durante esa primavera y verano, no permitieron una normal evolución de las brotaciones y la expresión del minador por lo que no se pudo dilucidar claramente el efecto del enemigo natural bajo estas circunstancias. Luego del invierno, en septiembre de 2004, se constató la presencia del parasitoide en Espinillar.

La temporada 2004-2005, fue el último período de liberaciones, las mismas se realizaron en ambas zonas del país. En la zona norte se continuó trabajando únicamente en el predio ubicado en Constanica, Paysandú, reduciendo el área a 12 puntos. En el sur se liberó en un predio ubicado en Cerrillos, departamento de Canelones, en el cual se fijaron tres sitios. Se soltaron aproximadamente 300 individuos por vez. El parasitismo de *A. citricola* en la zona norte fue cercano al 25% y constante durante todo el período. Sin embargo, en el

sur el parasitismo fue muy bajo aumentando hacia el otoño.

En el período 2005-2006 se decidió interrumpir las liberaciones en la zona norte debido a que el parasitoide logró sobrevivir las condiciones climáticas durante los últimos inviernos. En el sur, mostró dificultades en su adaptación, por lo que las liberaciones continuaron durante esta temporada, en un solo sitio, en la localidad de Araminda, departamento de Canelones. En Cerrillos, donde se habían realizado sueltas la temporada anterior, el parasitoide fue recuperado en la primavera, constatándose un parasitismo cercano al 30% en el otoño de 2006.

Durante el período 2006-2007, ya culminado el programa de liberaciones, se observó la presencia del parasitoide muy temprano en la temporada, a partir del mes de setiembre. Durante esa primavera se registraron niveles de parasitismo superiores al 50%. Durante el verano las poblaciones de *A. citricola* continuaron incrementándose, alcanzando en el otoño parasitismos mayores al 80%. En la zona sur se observó una tendencia similar. Por otro lado, es de destacar que fue la primer temporada donde se observó al parasitoide en forma muy generalizada en predios de la zona norte y sur del país, aún en aquellos en los cuales nunca se había liberado. Es de destacar que las brotaciones de verano y otoño presentaron una baja incidencia de la plaga. Sin embargo, el invierno de 2007 fue particularmente frío, con heladas intensas. Ello provocó una disminución drástica en las poblaciones de *A. citricola*. Aunque, se lo recuperó en la siguiente temporada en algunos sitios de la zona norte, sus poblaciones fueron muy bajas y el daño de minador en las brotaciones de verano y otoño fue muy severo.

2. Cría de *Ageniaspis citricola*

En otoño de 2002 se inició la cría de *A. citricola* en el laboratorio de INIA Salto Grande, adaptando a nuestras condiciones el método utilizado por Chagas y Parra (2000), Urbaneja *et al.* (1998), Smith y Hoy (1995). El esquema de cría seguido se presenta en la figura 6.2. Inicialmente se utilizó una

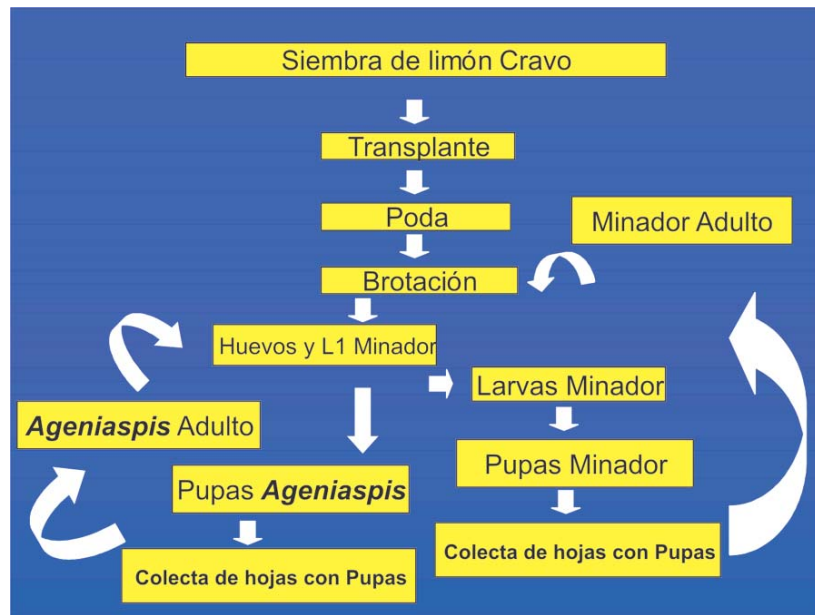


Figura 6.2. Esquema de cría de *Ageniaspis citricola*.

cámara de crecimiento con fotoperíodo, temperatura y humedad relativa controlada y dos biontrones con control de temperatura y fotoperíodo (Figura 6.3 A y B). Posteriormente, con el objetivo de lograr una mayor producción de parasitoides, la cría se realizó en un invernadero de vidrio y estructura de metal, subdividido en tres sectores. Uno de ellos fue destinado a la producción de plántines de cítricos, mientras que los otros dos a la multiplicación del minador y el parasitoide respectivamente (Figura 6.3 C).

Para optimizar la cría fue necesario ajustar la temperatura y humedad dentro del invernadero, estableciendo diferentes valores de estos factores de

acuerdo al sector. La calefacción se logró mediante la circulación de agua caliente a través de tubos y paneles radiantes. La temperatura mínima en la sala de producción de plantas fue de 17° C, mientras que en las salas de cría fue de 22° C. El control de temperaturas máximas fue obtenido por la circulación de aire forzado mediante el uso de 3 ventiladores en cada sector, los mismos se encendían cuando la temperatura alcanzaba los 25° C. El mantenimiento de la humedad relativa por encima del 70% en los sectores de cría, fue realizado con microaspersores.

Por otra parte, en cada sector del invernadero se instalaron tres mesadas de metal de 1 x 3 m cada una, sobre las cuales se depositaron las macetas o las jaulas. Las



Figura 6.3. Etapas del ajuste del método de cría. A y B. Plantas en cámaras de crecimiento. C. Plantas en jaulas dentro de invernadero.

jaulas tenían una estructura de madera y paredes de voile (Figura 6.3 C). Las dimensiones de éstas son 50 cm de ancho por 52 cm de profundidad y 70 cm de altura, con una capacidad en cada una de ellas para 15 macetas.

El material vegetal que se utilizó como hospedero de *P. citrella* fue el limón cravo, *Citrus limonia* L. Osbeck, suministrado por el laboratorio de micropagación y testajes biológicos de la Estación Experimental INIA Salto Grande. Los almácigos fueron realizados en el mismo invernadero sobre camas de arena esterilizadas. Una vez que los plantines tenían al menos 4 hojas se trasplantaron a macetas de plástico negro de 14 cm de altura y 14 cm de diámetro, las que tenían como sustrato una mezcla de turba y arena. Se colocaron tres plantines por maceta. Cuando las plantas tenían aproximadamente 6 meses de edad estaban en condiciones de ser utilizadas en la cría del minador (Figura 6.4). Todo el material vegetal recibió fertilizaciones semanales con urea, macro y micronutrientes, así como también tratamientos sanitarios en caso de ser necesarios.

Como fue mencionado anteriormente el minador realiza la puesta en brotes tiernos, por lo que es imprescindible disponer de los mismos para comenzar la cría. Es así, que con el objetivo de generar un brote de tamaño óptimo para el ataque del minador, los plantines fueron podados con anterioridad al inicio de un ciclo (Figura 6.4). En el verano este período era de aproximadamente 15 días mientras que en invierno era de 25-30 días. Una vez que los brotes

se encontraban receptivos (hojas de 1 a 2,5 cm de longitud), las macetas se ubicaron dentro de jaulas. La sincronización entre el tamaño del brote y el momento óptimo para la oviposición se realizaba mediante una cámara de crecimiento con temperatura controlada. En cada jaula se colocaban 15 macetas y posteriormente se liberaban 100-150 minadores adultos durante dos días consecutivos, constatándose que los mismos permanecían vivos al menos 5 días. Se alimentaron con una solución de agua-miel (1:1).

A. citricola parasita huevos y larvas de primer estadio, por lo que al tercer o cuarto día de la liberación de los adultos de minador, cuando estos estadios eran visibles, se soltaban 100 parasitoides por jaula durante dos días. Los mismos se alimentaron con una solución de agua-miel (1:1), observándose que no vivían más de 48 horas. Se realizaba el seguimiento de la cría por observación en microscopio estereoscópico, determinándose el momento de cosecha de las hojas cuando las pupas estaban maduras. Se colocaban las mismas en cajas de acrílico y malla en el laboratorio suministrándoles luz y calor para la emergencia de los adultos (Figura 6.5). El ciclo duró 15-18 días en verano y llegó a 30 días en el invierno.

Al finalizar cada ciclo de cría, los plantines utilizados eran trasladados al sector destinado al material vegetal y permanecían en «descanso» por al menos dos ciclos.



Plantas antes de la poda.



Plantas podadas.



Plantas con brotes aptos para la puesta de las hembras de minador.

Figura 6. 4. Material vegetal utilizado en la cría de *P. citrella*.



Figura 6.5. Cosecha de hojas con pupas de *A. citricola* y cámaras de emergencia del parasitoide.

3. Introducción de *Citrostichus phyllocnistoides*

Ante las dificultades mencionadas con *A. citricota* y teniendo en cuenta las experiencias de control biológico clásico en otras regiones la especie que pareció ser la más adecuada fue *C. phyllocnistoides*. Es un ectoparasitoide con un rango estrecho de hospederos y no presenta hábitos hiperparasíticos. Aunque no se había adaptado a las condiciones de Tucumán y Australia, en España, logró sobrevivir al invierno convirtiéndose en el parasitoide predominante.

C. phyllocnistoides se introdujo al país en setiembre de 2004 desde la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres, Tucumán, Argentina, y en octubre de 2004 y septiembre de 2005 desde la Universidad Politécnica de Valencia, España.

4. Cría de *Citrostichus phyllocnistoides*

La cría se inició en octubre de 2004. Fueron montados dos módulos, uno en Facultad de Agronomía y otro en INIA - Salto Grande.

En Facultad de Agronomía la producción de plantas se realizó en un invernáculo de vidrio y para la cría de minador y su parasitoide se usó una sala de paneles isotérmicos climatizada. La temperatura se mantuvo en $25^{\circ} \text{C} \pm 5$ y la humedad relativa de $65\% \pm 15$. Se utilizaron jaulas con estructura de caños de PVC y funda de voile (50 cm de ancho x 60 cm de altura y 50 cm de profundidad).

En INIA - Salto Grande se utilizó un invernadero de vidrio climatizado y subdividido en sectores en los cuales se manejó en forma separada el material vegetal, el minador y el parasitoide. El invernadero contaba con un sistema de control de temperatura y humedad, señalando el registro promedio de estos factores $22,9^{\circ} \text{C}$ y $72,8\%$ respectivamente. Se usaron jaulas con estructura de madera y voile (50 cm de ancho x 70 cm de altura y 52 cm de profundidad).

C. phyllocnistoides es un parasitoide de larvas de tercer estadio de minador por lo que la cría del parasitoide comenzó con la utilización de plantines que presentaban una alta proporción de éstas. En cada jaula, se liberaron durante al menos dos días consecutivos, un total de aproximadamente 120 adultos, proporcionándoles miel para su alimentación. El ciclo del parasitoide en estas condiciones fue de 14 días

en verano y 20 días en invierno. La longevidad de los adultos fue de siete días, lo que determinó una superposición de estadios de desarrollo y una dispersión en la emergencia. Por tal motivo se realizaron cosechas escalonadas de pupas durante tres-cuatro días, las cuales se colocaron en cajas de acrílico en laboratorio para la obtención de los adultos.

5. Liberación de *Citrostichus phyllocnistoides*

Las liberaciones se realizaron durante dos temporadas consecutivas (2004-2005 y 2005-2006). Las mismas se efectuaron en 3 sitios, uno en la zona sur (Punta Espinillo, departamento de Montevideo), y dos en la zona norte (Constancia, departamento de Paysandú e Itapebí, departamento de Salto).

El parasitoide se liberó en estado de pupa madura y como adultos. Previamente se seleccionaron cuadros con brotaciones abundantes que presentaran larvas desarrolladas de minador. Las liberaciones comenzaron en enero de 2005, con la suelta 300 individuos en cada sitio por vez en la zona norte y 100 en el sur. Durante esa temporada *C. phyllocnistoides* se recuperó en todos los sitios. Aunque logró sobrevivir y reproducirse en las condiciones locales, los niveles de parasitismo fueron muy bajos.

En el período 2005-2006 se manifestaron problemas en la cría que limitaron las sueltas. De todas formas las mismas se efectuaron, concentrándose en el norte, fundamentalmente en Constancia, liberando un número menor, de aproximadamente 150 individuos por vez. En Salto y en el sur se realizaron solamente dos y tres sueltas respectivamente. En ésta temporada se recobró al parasitoide solo en Paysandú, fundamentalmente en otoño.

Si bien las liberaciones no continuaron, en el período 2006-2007 se continuó observando al parasitoide en Paysandú, al final de la temporada, con bajos niveles de parasitismo.

En la temporada 2007-2008 en evaluaciones realizadas en diferentes quintas en los departamentos de Salto y Paysandú, el parasitoide fue encontrado hacia fines del verano y durante el otoño, en algunos casos con una importante actividad.

C. phyllocnistoides mostró una gran dispersión, se encontró en zonas alejadas a más de 30 km de los puntos de liberación.

6. Resumen

En el programa de control biológico clásico llevado adelante en Uruguay, se seleccionó en primera instancia al parasitoide *Ageniaspis citricola*, especie considerada muy eficiente en el control del minador de la hoja de los cítricos.

Se realizaron liberaciones de *A. citricola* durante siete años en quintas de las dos principales zonas cítricas del país. Actualmente se continúan efectuando observaciones para establecer su presencia y estimar su parasitismo en diferentes localidades. Este parasitoide mostró dificultades en su adaptación a nuestra región. Las condiciones imperantes durante el invierno representaron un aspecto crucial, que condicionó, en gran medida, el éxito del programa de control biológico del minador. Durante inviernos benignos el insecto sobrevivió en sitios de las zonas norte y sur, en algunos casos mostrando importantes niveles de parasitismo al final de la estación. Sin embargo después de inviernos más rigurosos, logró recuperarse solo en algunas parcelas de la zona norte en muy bajos niveles. Aunque esto es alentador, queda por evaluar la capacidad de recuperación y de dispersión de las poblaciones del parasitoide en las dos zonas después de los efectos catastróficos de las bajas temperaturas. Por otro lado, las altas temperaturas durante el verano, y la baja humedad ambiental, son factores que también inciden negativamente en las poblaciones del parasitoide. Consideramos que la dinámica de las poblaciones de *A. citricola* y su efecto sobre su hospedero *Phyllocnistis citrella*, van a ser variables y dependientes de las condiciones climáticas en cada año, particularmente durante el invierno. La situación en la zona sur es más problemática, después de inviernos rigurosos es muy difícil encontrar al parasitoide, y sin liberaciones adicionales es posible que no se recobre durante varias temporadas.

La otra especie importada al país en el programa de control biológico clásico implementado fue *Citrostichus phyllocnistoides*, considerada eficiente en la algunas zonas de origen del minador y en otras en las cuales fue introducida. Aunque se realizaron liberaciones en un número reducido de individuos y solamente durante dos temporadas, mostró una mayor capacidad de adap-

tación y dispersión en las condiciones de la zona norte. En el sur, en los últimos años no se ha encontrado. Pensamos que es muy pronto para evaluar el éxito del programa de liberaciones de este parasitoides y se deberían continuar con observaciones sistemáticas para determinar su presencia en las distintas zonas así como la estimación de su parasitismo y su efecto sobre la disminución del daño del minador.

Bibliografía

- ACHOR, D.S.; H.Y. BROWNING and ABRIGO, L.G.** 1997. Anatomical and histological effects of feeding by citrus leafminer larvae (*Phyllocnistis citrella* Stainton) in citrus leaves. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 122: 829-836.
- ALBRIGO, L.G.** 1996. Seasonal leaf area development in citrus. Relation to leaf miner. *In* Hoy, M. A. Managing of the citrus leafminer. Proceeding from an International Conference. Orlando, april 23-25, 1996. p. 70.
- AMALIN, D.M.; J.E. PEÑA; R.E. DUNCAN; H.W. BROWNING and MCSORLEY, R.** 2002. Natural mortality factors acting on citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in lime orchards in South Florida. *Biocontrol* 47: 327:347.
- ARGOV, Y.** 2003. Biological control of *Phyllocnistis citrella* in Israel. *Proc. Int. Citricult.* 2000: 829-831
- ARGOV, Y. and RÖSLER, Y.** 1996. Introduction, release and recovery of several exotic natural enemies for biological control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Israel. *Phytoparasitica* 24: 33-38.
- ARGOV, Y.; RÖSSLER, Y. y ROSEN, D.** 1995. Estado y perspectivas para el control del minador de las hojas de los cítricos en Israel. *Phytoma España*, 72: 146-148.
- ASPLANATO, G.; BUENAHORA, J.; PAZOS, J.; PAULLIER, J.; MUJICA, V. y BAO, L.** 2004. Fluctuación de poblaciones de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) y su parasitismo natural en Uruguay. *In* Sociedade Entomológica do Brasil. XX Congresso Brasileiro de Entomología, Gramado, RS. Brasil, 2004. p. 426.
- ASPLANATO, G.; BUENAHORA, J.; PAZOS, J.; FRANCO, J.; AMUEDO, S; Y RUBIO, L.** 2008. Dinámica de las poblaciones del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) después de la introducción de *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) en Uruguay. *In* Sociedade Entomológica do Brasil XXII Congresso Brasileiro de Entomologia, Uberlandia, MS, Brasil, 2008.
- BELASQUE JR., J.; PARRA-PEDRAZZOLI, A.L.; RODRIGUESNETO, J.; YAMAMOTO, P.T.; CHAGAS, M.C.M. ; PARRA, J.R.P.; VINYARD, B.T. and HARTUNG, J.S.** 2005. Adult citrus leafminers (*Phyllocnistis citrella*) are not efficient vectors for *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*. *Plant Dis.* 89: 590-594.
- BENTANCOURT, C. y SCATONI, I.B.** 2006. Familia Gracillariidae. *In* Lepidopteros de importancia económica en Uruguay. 2da edic. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. Facultad de Agronomía. Uruguay. Pág. 111-122.
- BRAHAM, M.; CHERMITI, B.; SOUISSI, R. and ZNAIDI, M.** 2006. Establishment and dispersal of the parasitoids *Ageniaspis citricola* Logvinovskaya (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Semielacher petiolatus* Girault (Hymenoptera: Eulophidae), introduced into Tunisia for the biological control of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *International Journal of Pest Management* 52: 353-363.
- BOTTO, E.** 2002. Selección de enemigos naturales para su empleo en control biológico aplicado. *In* C. Basso y A. Ribeiro (Eds.) Enemigos naturales como reguladores de poblaciones de insectos. Biodiversidad, conservación, manejo. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. pp. 65-77.
- BOUCEK, Z.** 1988. Australasian Chalcidoidea (Hymenoptera): A Biosystematic revision of genera of fourteen families with a reclassification of species. C.A.B. International Institute of Entomology. 794 p.
- BUENAHORA, J.; G. ASPLANATO, C. BENTANCOURT; I. SCATONI; J. PAZOS; A. TADEO.** 2004. Introducción y liberación de *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) en Uruguay. *In* Sociedade Entomológica do Brasil. XX Congresso Brasileiro de Entomologia. Gramado, RS, Brasil, 2004. p. 298.
- BUENAHORA, J.; C. BENTANCOURT; I. SCATONI; G. ASPLANATO; J. PAULLIER; J. PAZOS; J. PINTOS Y A. GONZÁLEZ.** 2001. Enemigos naturales del minador de las hojas de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep. Gracillariidae). *In* VIII Congreso Nacional de Horticultura, Resúmenes. Salto, Uruguay, noviembre de 2001.
- CÁCERES, S.** 1999 a. Estrategias de control del minador de los citrus en Corrientes. *In* Jornadas Técnicas de Citricultura, Concordia, Entre Ríos, Argentina, 1999.

- CÁCERES, S.** 1999 b. Líneas de trabajo para la implementación del Manejo Integrado del minador de los cítricos en Corrientes. *In* Jornada de actualización referida al manejo del minador de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*) con énfasis en el control biológico. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria SENASA, Programa Nacional de Sanidad Citricola. MERCOSUR. Proyecto UE-MERCOSUR AGR. Buenos Aires, Argentina, setiembre de 1999.
- CÁCERES, S.** 2003 a. Establishment and dispersal of citrus leafminer parasitoid *Ageniaspis citricola* in Corrientes, Argentina. *Proc. Int. Soc. Citricult.* 2000: 832-833.
- CÁCERES, S.** 2003 b. The citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its native parasitoids in Corrientes, Argentina. *Proc. Int. Soc. Citricult.* 2000: 834-835.
- COSTA, V. A.** 2000. Parasitoides da lagarta minadora dos citros. *In* Encontro sobre minador das folhas dos citros (2000, Campinas, SP). Trabajos presentados. Campinas, Instituto Biológico, Ministerio da Agricultura e Abastecimento. pp. 11-18.
- COSTA, V.A.; SÁ, L.A.N.; LASALLE, J.; DE NARDO, E.A.B.; ARELLANO, F. e FUINI, L.C.** 1999. Preliminary studies on Indigenous parasitoids (Hym., Chalcidoidea) of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep., Gracillariidae) in Jaguariúna, Sao Paulo state, Brazil: preliminary results. *Journal of Applied Entomology* 123: 237-240.
- CHAGAS, M.C.M.** 1999. *Phyllocnistis citrella* Stainton, 1856 (Lepidoptera: Gracillariidae): Bioecología e relação com o cancro cítrico. Tesis de doctorado, Universidad de Sao Paulo, Piracicaba, Sao Paulo.
- CHAGAS, M.C.M. e PARRA, J.R.P.** 2000. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Técnica de criação e biologia em diferentes temperaturas. *An. Soc. Entomol. Brasil.* 29: 227-235.
- CHAGAS, M.C.M.; PARRA, J.R.P.; NAMEKATA, T.; HARTUNG, J.S. and YAMAMOTO, P.T.** 2001. *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) and its relationship with the citrus canker bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* in Brazil. *Neotropical Entomology* 30: 55-59.
- CHRISTIANO, R.S.C.** 2003. Componentes monocíclicos do cancro cítrico no sistema *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* – limao Tahiti- *Phyllocnistis citrella*, sob condicoes controladas. Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz». Universidad de Sao Paulo. Tesis de maestría.
- COOK, A. A.** 1988. Association of citrus canker pustules with leaf tunnels in North Yemen. *Plant Disease* 72: 546.
- DAVIS, D.R.** 1987. Gracillariidae (Tinoidea). *In* Stehr, F. (ed.) *Inmature insects*. Dubuque, Kendall/Hunt. V.1. pp 372-374.
- DE PRINS, W. and DE PRINS, J.** 2005. Gracillariidae. *In* World Catalogue of insects 6:1-502.
- DE VILLIERS, E.A.** 1998. Citrus leaf miner. *In* E.C.G.Bedford, M.A. van den Berg & E.A. de Villiers (Eds). *Citrus Pests in the Republic of South Africa*. Pag. 187-189.
- DIEZ, P.A. y FIDALGO, P.** 2002. Datos preliminares sobre la fluctuación poblacional de *Phyllocnistis citrella* y sus parasitoides (Hymenoptera), en Horco Molle, Dpto Tafí Viejo, Tucumán (Argentina). *In* V Congreso argentino de entomología. Buenos Aires, marzo 2002. Pág 256.
- DIEZ, P.A. and FIDALGO, P.** 2003. *Cirrospilus neotropicus* sp.n. (Hymenoptera: Eulophidae): an indigenous biocontrol agent of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) in Argentina. *Entomological News* 114: 98-103.
- DIEZ, P.A.; FIDALGO, P. y FRÍAS, E.** 1999. Presencia de *Ageniaspis citricola* (Hym.: Encyrtidae) parasitoide de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) in Argentina. *In* Resúmenes X Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Jujuy. 1999. p. 266.
- DIEZ, P.A.; FIDALGO, P. y VIRLA, E.** 2002. Relevamiento de parasitoides de *Phyllocnistis citrella* (Lep.: Gracillariidae) en diferentes zona cítricas del noroeste argentino. *In* Asociación de Biología de Tucumán. XIX Jornadas científicas, octubre 2002, Tucumán, Argentina. p.39.
- DIEZ, P. A.; J. E. PEÑA, J. E. and FIDALGO, P.** 2006 a. Population dynamics of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoids in Tafí

- Viejo, Tucumán, Argentina. Florida Entomologist 89: 328-335.
- DIEZ, P. A.; TORRÉNS J. and FIDALGO, P.** 2006 b. A new species of *Elasmus* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae) in South America. Entomological News 117: 167-174.
- EDWARDS, O.R. and HOY, M.A.** 1998. Biology of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 91:654-660.
- EFROM, C.E.S.; REDAELLI, L.R. e DIEFENBACH, L.M.G.** 2007. Diversidade de parasitóides de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) em variedades de citros e a relação com fatores bióticos e abióticos. Arq. Inst. Biol. 74: 121-128.
- EHLER, L.E.** 1998. Invasion Biology and Biological Control. Biological Control 13: 127-133.
- ELIZONDO, J.M.** 1997. Biología poblacional y daño del minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* en la Region Huetar Norte de Costa Rica. In IV Congreso Costarricense de Entomología, San José, CR, 17-21 de noviembre de 1997.
- EVANS, G.A.** 1999. A new species of *Cirrospilus* (Hymenoptera: Eulophidae) and two new synonymies of parasitoids reared from the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae). Florida Entomologist 82: 448-453.
- FARÍAS, A. y GARCÍA-MARÍ, F.** 2002. Factores que afectan el comportamiento de puesta en adultos de minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae). Bol. San. Veg. Plagas 28: 493-503.
- FEICHTENBERGER, E. e RAGA, A.** 1996. First record of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lep.: Gracillariidae) in Brazil. In Congresso brasileiro de fruticultura 14. Curitiba 1996. Anais. p 445.
- FERNÁNDEZ, R.; GHIGGIA, I.; FIDALGO, P.; JAIME DE HERRERO, A.; DIEZ, P. y WILLINK, E.** 1999. Parasitoides de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera, Gracillariidae) y su distribución en el agroecosistema cítrico de Tucumán, Argentina. In Resúmenes X Jornadas fitosanitarias argentinas, Jujuy, 1999. p. 248.
- FOELKEL, E.** 2007. Biología de *Cirrospilus neotropicus* Diez y Fidalgo (Hymenoptera: Eulophidae) e atividades de parasitismo y predación sobre o minador dos- citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Tesis de Mestre em Fitotecnia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. 78 p.
- GARCÍA-MARÍ, F.; COSTA-COMELLES, J. y FERRAGUT PÉREZ, F.** 1994. El minador de hojas de cítricos, *Phyllocnistis citrella* In Plagas agrícolas. 2ª Edición. Phytoma – España. Pág. 267-269.
- GARCÍA-MARÍ, F.; GRANDA, C.; ZARAGOZA, S. and AGUSTÍ, M.** 2002. Impact of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) on leaf area development and yield of mature citrus trees in de Mediterranean area. J. Econ. Entomol. 95: 966-974.
- GARCÍA-MARÍ, F.; VERCHER, R.; COSTA-COMELLES, J.; BERNAT, J.; RIPOLLÉS, J. L.; SERRANO, C.; MALAGÓN, J. y ALFARO, F.** 1997. Primeras observaciones sobre la colonización de parasitoides introducidos para el control del minador de hojas de cítricos, *Phyllocnistis citrella*. Levante Agrícola 339:132-138.
- GARCÍA-MARÍ, F.; VERCHER, R.; COSTA-COMELLES, J.; MARZAL, C. and VILLALBA, M.** 2004. Establishment of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae) as biological control agent for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Spain. Biological Control 29: 215-226.
- GARIJO, C. y GARCÍA, E.** 1994. *Phyllocnistis citrella* (Stainton, 1856) (Insecta: Lepidoptera: Gracillariidae: Phyllocnistinae) en los cultivos de cítricos en Andalucía (Sur España): Biología, ecología y control de la plaga. Bol. San. Veg. Plagas, 20: 815-816.
- GARRIDO, A. y GASCÓN, I.** 1995. Distribución de fases inmaduras de *Phyllocnistis citrella* Stainton, según el tamaño de la hoja. Bol. San. Veg. Plagas, 21:559-571.
- GARRIDO, A.; JACAS, J.; MARGAIX, C. y TADEO, F.** 1998. Biología del minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton). Levante Agrícola, 343: 167-170.

- GOTTWALD, T.R.; BASSANEZI, R.B.; AMORIN, L. and BERGAMIN-FILHO, A.** 2007. Spatial pattern analysis of citrus canker-infected plantings in Sao Paulo, Brazil, and augmentation of infection elicited by de Asian leafminer. *Phytopathol.* 97:674-683.
- GOTTWALD, T.R.; GRAHAM, J.H. and SCHUBERT, T.S.** 1997. An epidemiological analysis of the spread of citrus canker in urban Miami, Florida, and synergistic interaction with the Asian citrus leafminer. *Fruits* 52:383-390.
- GRAFTON-CARDWELL, E.E.; HEADRICK, D.H.; GODFREY, K.E.; KABASHIMA, J.N.; FABER, B.A.; LAZANEO, V.F.; MAUK, P.A. and MORSE, J.G.** 2007. Citrus leafminer. Pest notes. University of California Agriculture and Natural Resources. Publication 74137.
- GRAHAM, J. H.; GOTTWALD, T.R.; BROWING, H.W. and ACHOR, D.S.** 1996. Citrus leafminer exacerbated the outbreak of asiatic citri canker in South Florida. *In* Hoy, M. A. Managing of the citrus leafminer. Proceeding from an International Conference. Orlando, april 23-25, 1996. Pag. 83.
- GRANDA, C.** 2000. Impacto de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera, Gracillariidae) sobre el área foliar y la producción de cítricos. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- GREATHEAD, D.J.** 1997. An introduction to de FAO code of conduct for the import and release of exotic biological control agents. *Biocontrol News and Information.* 18: 117-118. Review Article.
- GUILLÉN, M.; HERATY, J. and URBANEJA, A.** 2007. Fecundity and development of *Cirrospilus coachellae* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Marmara gulosa* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Journal of Economic Entomology* 100: 664-669.
- HEPPNER, J. B.** 1993. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*, in Florida (Lepidoptera, Gracillariidae, Phyllocnistinae). *Tropical Lepidoptera* 4:49-64.
- HOWARTH, F.G.** 1991. Environmental impacts of classical biological control. *Ann. Rev. Entomol.* 26: 485-509.
- HOY, M. A. and NGUYEN, R.** 1997. Classical biological control of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae): Theory, practice, art and science. *Tropical Lepidoptera*, 8 (Suppl): 1-19.
- HOY, M.A.; ZAPPALA, L. and NGUYEN, R.** 2003. *Semiela cher petiolatus* (Girault) (Insecta: Hymemoptera; Eulophidae). Nov.2003. University of Florida. http://creatures.ifas.ufl.edu/beneficial/s_petiolatus.htm.
- HOY, M.A.; SINGH, R. and M.E. ROGERS, M.E.** 2007. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), and natural enemy dynamics in Central Florida during 2005. *Florida Entomologist* 90: 358-369.
- JACAS, J.A. and GARRIDO, A.** 1996. Differences in the morfology of male and female pupae of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Florida Entomologist*, 79: 603-606.
- JAHNKE, S.M.; REDAELLI, L. R. and DIEFENBACH, L.M.G.** 2005. First record of occurrence of *Cirrospilus floridensis* Evans (Hymenoptera) as a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera) in Brazil. *Ciencia Rural* 35:459-461.
- JAHNKE, S.M.; REDAELLI, L.R. e DIEFENBACH, L.M.G.** 2006. Parasitismo em *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) em pomares de citros em Montenegro, R.S. *Neotropical Entomology* 35: 357-363.
- JAHNKE, S.M.; REDAELLI, L.R.; DIEFENBACH, L.M.G. and SOGLIO, F.K.D.** 2007. Structure and composition of the assemblage of parasitoid associated to *Phyllocnistis citrella* pupae Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in citrus orchards in southern Brazil. *Neotropical Entomology* 36: 746-751.
- JERVIS, M. and KIDD, N.** 1996. *Insect Natural Enemies: Practical Approach to their Study and Evaluation.* Chapman & Hall, Londres, UK, 491pp.
- JESÚS JUNIOR, W.C.; BELASQUE, JUNIOR, F.K.D.; AMORIN, L.; CHRISTANO, R.S.C. PARRA, J.R.P. and BERGAMIN FILHO, A.** 2006. Injuries caused by citrus leafminer (*Phyllocnistis citrella*) exacerbate citrus canker (*Xanthomonas axonopodis* pv *citri*) infection. *Fitopatol. Bras.* 31: 277-283.

- KNAPP, J. L.; ALBRIGO, L. G.; BROWNING, H. W.; BULLOCK, R. C.; HEPNER, J. B.; HALL, D. G.; HOY, M. A.; NGUYEN, R.; PEÑA, J. E. and STANSLY, P. A.** 1995. Citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton: current status in Florida – 1995. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville. 35 p.
- LAPOINTE, S. L.; HALL, D. G.; MURATA, Y.; APARRA-PEDRAZOLLI, .L.; BENTO, J. M. S.; VILELA, E. and LEAL, W. S.** 2006. Field evaluation of a synthetic female sex pheromone for the leafmining moth *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida citrus. Florida Entomologist. 89: 274-276.
- LAPOINTE, S. L. and LEAL, W. S.** 2007. Describing seasonal phenology of the leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) with pheromone lures: controlling for lure degradation. Florida Entomologist 90: 710-714.
- LASALLE, J. and PEÑA, J. E.** 1997. A new species of *Galepsomyia* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae): a fortuitous parasitoid of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Florida Entomologist 80: 461-470.
- LEAL, W. S.; PARRA-PEDRAZZOLI, A. L.; COSSÉ, A. A.; MURATA, Y.; BENTO, J. M. S. and VILELA, E. F.** 2006. Identification, synthesis, and field evaluation of sex pheromone from the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*. J. Chem. Ecol. 32: 155-168.
- LEGASPI, J. C.; FRENCH, J. V.; SCHAUFF, M. E. and WOOLEY, J. B.** 1999. The citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in south Texas: Incidence and parasitism. Florida Entomologist 82: 305-316.
- LEGASPI, J. C.; FRENCH, J. V.; ZÚÑIGA, A. G. and LEGASPI JR, B. C.** 2001. POPULATION dynamic of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its natural enemies in Texas and Mexico. Biological Control 21: 84-90.
- LIANDE, W. MINSHENG, Y.; WANG, J. and QING, W.** 1999. Niches of citrus leafminer and its natural enemies. J. of Fujian Agricultural University. 28: 319-324.
- LIM, U. T. and HOY, M. A.** 2005. Biological assessment in quarantine of *Semiolachar petiolatus* (Hymenoptera: Eulophidae) as a potencial classical biological control agent of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), in Florida. Biological Control 33: 87-95.
- LIM, U. T. and HOY, M. A.** 2006. Overwintering of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae), without diapause in Florida. Florida Entomologist 89: 361-366.
- LIM, U. T.; ZAPALA, L. and HOY, M. A.** 2006. Pre-release evaluation of *Semiolachar petiolatus* (Hymenoptera: Eulophidae) in quarantine for the control of citrus leafminer: Host discrimination, relative humidity tolerance, and alternative hosts. Biological Control 36: 65-73.
- LIONI, A. S. R. e CIVINDANES, F. J.** 2004. Tabela de vida ecológica do minador dos citros *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Neotropical Entomological 33: 407-415.
- LLÁCER, E.; URBANEJA, A.; JACAS, J. y GARRIDO, A.** 1998a. Parasitoides del minador de las hojas de los cítricos en la Comunidad Valenciana. Levante Agrícola 344: 226-231.
- LLÁCER, E.; URBANEJA, A.; JACAS, J. y GARRIDO, A.** 1998b. Introducción de *Galepsomyia fausta* LaSalle, ectoparasitoide de pupas del minador de las hojas de los cítricos. Levante Agrícola 343: 159-162.
- LLÁCER, E.; URBANEJA, A.; GARRIDO, A. and JACAS, J.** 2005. Morphology and development of immature stages of *Galepsomyia fausta* (Hymenoptera: Eulophidae: Tetrastichinae). Ann. Entomol. Soc. Am. 98: 747-753.
- MARGAIX, C. y GARRIDO, A.** 2000. Efecto de temperaturas constantes en el desarrollo de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Bol. San. Veg. Plagas. 26: 277-283.
- MARGAIX, C. HINAREJOS, R. y GARRIDO, A.** 2000. Hibernación y ciclo biológico del minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton) en condiciones de campo. Bol. San. Veg. Plagas. 26: 269-275.
- MARGAIX, C.; JACAS, J. y GARRIDO, A.** 1998. Parámetros de reproducción de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) en condiciones

- controladas. Bol. San. Veg. Plagas. 24: 207-218.
- MARQUEZ, A. L.; GARCÍA, S.; GARCÍA, E.; OLIVERO, J. and WONG, E.** 2003. Native auxiliary complex of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton in Malaga province (Spain): Effects of competence with the introduced auxiliary species *Citrostichus phyllocnistoides* Narayanan. Bulletin OILB/SROP 26: 17-22.
- MASSA, B.; RIZZO, M.C. and CALECA, V.** 2001. Natural alternative hosts of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) parasitoids of the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Mediterranean Basin. J. of Hymenoptera Research. 10: 91-100.
- MINEO, G.; CALECA, V. and MASSA, B.** 1998. *Semiolacher petiolatus* (Girault) (Hymenoptera: Eulophidae) natural antagonist of *Phyllocnistis citrella* Stainton, (Lepidoptera: Gracillariidae). Naturalista sicil. S.IV, XXII: 3-6.
- MINEO, N.; MINEO, G. e SINACORI, A.** 2001. Primi reperti sull'acclimatazione di *Citrostichus phyllocnistoides* (Narayanan) (Hym. Eulophidae) in Sicilia. Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura. 33: 69-72.
- MONTES, S.M.N.M.; BOLIANI, A.C.; PAPA, G.; CERÁVOLO, L.C.; ROSSI, A.C. e NAMEKATA, T.** 2001. Ocorrência de parasitoides da larva minadora dos citros, *Phyllocnistis citrella* Stainton, no município de Presidente Prudente, SP. Arq. Inst. Biol., 68:63-66.
- MOREIRA, J.A.S.; MCELFRISH, S. and MILLAR, J.G.** 2006. Identification, synthesis, and field testing of sex pheromone of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*. J. Chem. Ecol. 32: 169-194.
- NAUMANN, I.D.** 1991. Hymenoptera. In: Naumann, I. D.; P. B. Carne; J. F. Lawrence; E. S. Nielsen; J. P. Spradbury; R. W. Taylor; M. J. Whitten & M. J. Littlejohn (eds.) The insects of Australia: A textbook for students and research workers. Carlton, Victoria, Melbourne University Press. vol. 2, 916-1000.
- NEALE, C.; SMITH, D.; BEATTIE, G.A.C. and MILES, M.** 1995. Importation, host specificity testing, rearing and release of three parasitoids of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Australia. J. Aust. Ent. Soc. 34: 343-348.
- NIELSEN, E. S. and COMMON, I. F. B.** 1991. Lepidoptera. In Naumann, I. D.; P. B. Carne; J. F. Lawrence; E. S. Nielsen; J. P. Spradbury; R. W. Taylor; M. J. Whitten & M. J. Littlejohn (eds.) The insects of Australia: A textbook for students and research workers. Carlton, Victoria, Melbourne University Press. vol. 2. 817-915.
- Parra, J. R. P.** 2000. *Phyllocnistis citrella*, o minador dos citros: bioecologia y alternativas de controle. In Encontro sobre minador das folhas dos citros (2000, Campinas, SP, Brasil). Trabalhos apresentados. Campinas, Instituto Biológico, Ministerio da Agricultura e Abastecimento. Pag. 7-10.
- PARRA, J. R. P.; CHAGAS, M.C.M.; YAMAMOTO, P.T.; GRAVENA, S.; MILANO, P.; DELEAO, H.C.; MARQUES, A.; PARRA, A.L.G.C. e FIALHO, A.** 2001. *Ageniaspis citricola* em citros no Brasil: visao peral, três anos após sua introdução. In SEB, Simposio de controle biológico, 7, Poços de Caldas, 2001. p. 20
- PEÑA, J.E.; DUNCAN, R. and BROWNING, H.** 1996. Seasonal abundance of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) and its parasitoids in South Florida citrus. Environ. Entomol. 25: 698-702.
- PEÑA, J.E.; HUNSBERGER, A. and SCHAFFER, B.** 2000. Citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) Density: Effect on yield of «Tahiti» Lime. J. Econ. Entomol. 93: 374-379.
- POMERINKE, M.A. and STANLEY, P.** 1998. Establishment of *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) for biological control of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Florida. Florida Entomologist 81: 361-372.
- PRATES, H.S.; NAKANO, O. e GRAVENA, S.** 1996. «Minadora das folhas de citros» *Phyllocnistis citrella*, Stainton, 1856. Campinas: CATI, 1996. 3p. (CATI. Comunicado Técnico, 129).
- PUTRUELE, G.** 1999. Control biológico del «Minador de las hojas de los cítricos» en Concordia, Entre Ríos. In Jornadas Técnicas de Citricultura, Concordia, Entre Ríos, Argentina, junio 1999.

- PUTRUELE, G. y PETIT MARTY, N.** 1999. Control biológico del «Minador de las hojas de los cítricos» en Concordia, Entre Ríos. In Jornada de actualización referida al manejo del minador de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*) con énfasis en el control biológico. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria SENASA, Programa Nacional de Sanidad Citrícola. MERCOSUR. Proyecto UE-MERCOSUR AGR. Buenos Aires, Argentina, septiembre 1999.
- RIZZO, M.C.; VERDE, V.L. and CALECA, V.** 2006. Role of spontaneous plants as a reservoir of alternative hosts for *Semielacher petiolatus* (Girault) and *Citrostichus phyllocnistoides* (Narayanan) (Hymenoptera: Eulophidae) in citrus groves. IOBC wprs Bulletin 29: 109-112.
- ROBLES GONZÁLEZ, M.; MEDINA, URRUTIA, V.M.; y MORFÍN VALENCIA, A.** 2005. Daño de minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en limón mexicano. Revista Chapingo Serie horticultura 11:379-386.
- RUIZ CANCINO, E.; MARTÍNEZ BERNAL, C.; CORONADO BLANCO, J.M.; MATEOS CRESPO, J.R. y PEÑA, J.** 2001. Himenópteros parasitoides de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en Tamaulipas y norte de Veracruz, México, con una clave para las especies. Folia Entomol. Mex. 40 (1): 83-90.
- SÁ, L.A.N.; COSTA, V.A.; DE OLIVEIRA, W.P. and DE ALMEIDA, G.R.** 2000. Parasitoids of *Phyllocnistis citrella* in Jaguariúna, state of Sao Paulo, Brazil, before and after the introduction of *Ageniaspis citricola*. Sci. agric. 57: 799-801.
- SÁNCHEZ, J.; CERMELLI, M.; y MORALES, P.** 2002. Ciclo biológico del minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en naranja Citrus sinensis (L.) Osbeck). Entomotropica 17:167-172.
- SCATONI, I.; ASPLANATO, G.; BENTANCOURT, C.; PAZOS, J.; SOLER, R.; FRANCO, J. y PAULLIER, J.** 1999. Dinámica poblacional del minador de los brotes de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). In Jornadas Técnicas de INIA Las Brujas (1999, Las Brujas, Canelones). Trabajos presentados. Las Brujas, INIA. 10 p. (Serie de Actividades de Difusión no. 212).
- SCHAUFF, M.F.; LASALLE, J. and WIJESEKARA, G.A.** 1998. The genera of chalcid parasitoids (Hymenoptera: Cahlcidoidea) of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). J. Natural History 32: 1001-1056.
- SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. GOBIERNO DE CHILE.** 2005. Instructivo prospección integral de cítricos. Proyecto de Vigilancia Fitosanitaria. Versión junio 2005.
- SISCARO, G.; BARBAGALLO, S.; LONGO, S. and PATTI, I.** 1997. Prime acquisizioni sul controllo biologico e integrato Della minatrice serpentina degli agrumi in Italia. Informatore Fitopatologico, 7-8: 19-26.
- SMITH, D. and BEATTIE, G.** 1996. Australian citrus IPM and citrus leafminer. In Hoy, M. A. Managing of the citrus leafminer. Proceeding from an International Conference. Orlando, april 23-25, 1996. Pag. 34-46.
- SMITH, D. and HOY, M.A.** 1995. Rearing methods for *Ageniaspis citricola* (Hymenoptera: Encyrtidae) and *Cirrospilus quadristriatus* (Hymenoptera: Eulophidae) released in a classical biological control program for the citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Florida Entomologist 78: 600-608.
- STELINSKY, L.; MILLAR, J. and ROGERS, M.** 2008. Mating disruption of citrus leafminer mediated by a noncompetitive mechanism at a remarkably low pheromone release rate. Journal of Chemical Ecology 34: 1107-1113.
- STELINSKY, L. and ROGERS, M.** 2008. Factors affecting captures of male citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton, in pheromone-bait traps. J. Appl. Entomology 132: 143-150.
- TAN, B. and HUANG, M.** 1996. Managing the citrus leafminer in China. In Hoy, M. A. Managing of the citrus leafminer. Proceeding from an International Conference. Orlando, april 23-25, 1996. Pag. 49 – 52.
- TZEKANN, W. AND KWEISHUI, L.** 1998. Influence of green lacewing; *Mallada basalis* (Walker) (Neuroptera: Chrysopidae), on parasitoids of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton

- (Lepidoptera: Phyllocnistidae). Chinese J. Entomol. 18: 13-25.
- UJIYE, T.** 2000. Biology and control of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Japan. Japan Agricultural Research Quarterly (JARQ) 34: 167-173.
- UJIYE, T. and ADACHI, I.** 1995. Parasitoids of the citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Phyllocnistidae) in Japan and Taiwan. Bull. Fruit Tree Res. Sta. (Shimizu), 27: 79-102.
- URBANEJA, A.** 2001. El minador de las hojas de los cítricos. Sociedad Española de Entomología Aplicada (SEEA). <http://www.seea.es/conlupa>
- URBANEJA, A. y JACAS, J. A.** 2003. Depredación de *Phyllocnistis citrella*: importancia de la fauna auxiliar generalista y su conservación en cítricos. Phytoma España 153: 171-172.
- URBANEJA, A.; YACER, E.; HINAREJOS, R.; JACAS, J. y GARRIDO, A.** 1998. Sistema de cría del Minador de las hojas de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* Stainton y sus parasitoides *Cirrospilus* próximo a *lyncus* y *Quadrastichus* sp. Bol. San. Veg. Plagas 24: 787-796.
- URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; TOMÁS, O.; GARRIDO, A. and JACAS, J.** 1999. Effect of temperature on development and survival of *Cirrospilus* sp. near *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Environ. Entomol. 28: 339-344.
- URBANEJA, A.; LLÁCER, E.; TOMÁS, O. GARRIDO, A. and JACAS, J. A.** 2000. Indigenous natural enemies associated with *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in eastern Spain. Biological Control 18: 199-207.
- URBANEJAA.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A. and JACAS, J.** 2001. Effect of temperature on the life history of *Cirrospilus* sp. nr. *lyncus* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Biological Control, 21: 293-299.
- URBANEJA, A.; HINAREJOS, R.; LLÁCER, E.; GARRIDO, A. and JACAS, J.** 2002. Effect of temperature on life history of *Cirrospilus vittatus* (Hymenoptera: Eulophidae), an ectoparasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). J. Econ. Entomol. 95: 250-255.
- URBANEJA, A.; MORALES, C.; HERMOSO DE MENDOZA, A.; GARRIDO, A. and JACAS, J.** 2003. Effect of temperature on development and survival of *Citrostichus phyllocnistoides* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Biocontrol Science and Technology. 13: 127-130.
- VANLENTEREN, J.C.; BABENDREIR, D; BIGLER, F.; BURGIO, G.; H.M.T.; KUSKE, S.; LOOMANS, A.J.M.; MENZLER-HOKKANEN, I.; VAN RIJN, P.C.J.; THOMAS, M.B.; TOMMASINI, M.G. and ZENG, Q.Q.** 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. BioControl 48: 3-38.
- VERCHER, R.** 2000. Control biológico del minador de las hojas de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- VERCHER, R.; COSTA COMELLES, J.; MARZAL, C. and GARCÍA-MARÍ, F.** 2005. Recruitment of native parasitoid species by invading leafminer *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) on citrus in Spain. Environ. Entomol. 34: 1129-1138.
- VERCHER, R.; GARCÍA-MARÍ, F.; COSTA COMELLES, J.; MARZAL, C. y GRANDA, C.** 2000. Importación y establecimiento de parásitos del minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). Bol. San. Veg. Plagas. 26:577-591.
- VERCHER, R.; VERDÚ, M.J.; COSTA, COMELLES, J. y GARCÍA-MARÍ, F.** 1995. Parasitoides autóctonos del minador de hojas de cítricos *Phyllocnistis citrella* en las comarcas centrales valencianas. Levante Agrícola, 4º trimestre: 306 - 312.
- VERDÚ, M.J.** 1996. Chalcidoidea (Hymenoptera), parásitos del minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* (S) (Lep.: Gracillariidae) en España. Levante Agrícola 336:227-230.
- WAAGE, J.K.** 1990. Ecological theory and the selection of biological control agents. In M. Mackauer, L.E. Ehler and J. Roland, Eds. Critical Issues in Biological Control. Pag. 135-157.

- WANG, L.; BISSELEUA, D.H.B. ; YOU, M. ; HUANG, J. and LIU, B.** 2006. Population dynamics and functional response of *Citrostichus phyllocnistoides* (Narayanan) (Hym., Eulophidae) on citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lep., Phyllocnistidae) in Fuzhou region of south-east China. J. Appl. Entomol. 130: 96-102.
- WARE, A.B. and HATTINGH, V.** 1996. Citrus leafminer in Southern Africa. In Proc. Int. Soc. Citricultura, 1996. pp. 1309-1311.
- WILLINK, E.; FIGUEROA, D. ; ZAMUDIO, P. y SALAS, H.** 1998. Control biológico del minador de la hoja de los cítricos. Avance Agroindustrial 73: 14-18.
- WILLINK, E., SALAS, H. y COSTILLA, M.** 1996. El minador de la hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella* en el NOA. Avance Agroindustrial N° 65: 15-20.
- WILLINK, E., SALAS, H.; FIGUEROA, D. H.; ZAMUDIO, P.; TOLEDO, S. y ZAIA, G.** 1999. Manejo integrado del minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae) en el NOA. Jornadas Técnicas de Citricultura, Concordia, Entre Ríos, Argentina, junio 1999.
- WILLINK, E.; ZAIA, G.; GASTAMINZA, G.; ZAMUDIO, P.; SALAS, H.; CASMUZ, A.; MEDINA, S. y JALDO, H.** 2002. Introducción de *Citrostichus phyllocnistoides* para el control biológico del minador de los cítricos en el NOA. Avance Agroindustrial 23: 17-19.
- XIAO, Y.; QURESHI, J. A. and STANSLY, P. A.** 2007. Contribution of predation and parasitism to mortality of citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton. (Lepidoptera: Gracillariidae) populations in Florida. Biological Control 40: 396-404.
- ZAIA, G.** 2004. Efecto de los enemigos naturales sobre el minador de los cítricos *Phyllocnistis citrella* Stainton en la provincia de Tucumán. Avance Agroindustrial, junio 2004: 23-27.

