
UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA



INSTITUTO VALENCIANO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS

ivia
Instituto Valenciano
de Investigaciones Agrarias

Diseño de una estrategia para el control biológico de *Trioza erytreae* (Del Guercio) y *Diaphorina citri* (Kuwayama)

Trabajo Final de Grado

Grado en Ingeniería Agroalimentaria y del Medio Rural
Orientación en Recursos Naturales y Medio Ambiente

Alberto Esteban Cortés

Valencia, 28 Noviembre de 2016

Tutor académico: Rafael Laborda Cenjor

Directores académicos: César Monzó Ferrer y Alejandro Tena Barreda

Diseño de una estrategia para el control biológico de *Trioza erytreae* (Del Guercio) y *Diaphorina citri* (Kuwayama)

Alumno: D. Alberto Esteban Cortés

Valencia, Noviembre de 2016

Tutor Académico: Rafael Laborda Cenjor

Directores académicos: César Monzó Ferrer y Alejandro Tena Barreda

Resumen

El marco del presente trabajo se sitúa dentro de un programa de control biológico de los psílidos *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Psyllidae) y *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Liviidae) que transmiten las bacterias (*Candidatus Liberibacter africanus* y *asiaticus*) agentes causales de una enfermedad incurable conocida como Huangloving (HLB).

El objetivo del trabajo fue caracterizar los psílidos próximos filogenéticamente a estas dos especies presentes en la Comunidad Valenciana. Concretamente se estudió la abundancia, evolución estacional y enemigos naturales de siete especies de psílidos utilizando trampas cromáticas amarillas y examinando material vegetal colectado en 25 puntos de muestreo a lo largo de 2016.

Los psílidos estudiados fueron por orden de abundancia *Glycaspis brimblecombei* (Moore) sobre *Eucalyptus camaldulensi* (Dehnhardt), *Blastopsylla occidentalis* (Taylor) también sobre *Eucalyptus camaldulensi* (Dehnh) s, *Trioza alacris* (Flor) sobre *Laurus nobilis* (Linneo), *Trioza curvatinervis* (Foerster) sobre *Salix babilónica* (L.), *Bactericera tremblayi* (Wagner) sobre *Allium cepa* (L.), *Euphyllura olivina* (Costa) sobre *Olea europea* (L.).

La evolución estacional obtenida con las trampas amarillas muestra que *E. olivina* fue más abundante en primavera, mientras que *B. tremblayi* y *B. occidentalis* fueron más abundantes en verano. Las especies *G. brimblecombei*, *T. alacris*, *T. curvatinervis* estuvieron presentes y fueron abundantes durante todo el muestreo, desde mayo a septiembre. Cabe destacar que en eucalipto *G. brimblecombei* fue abundante en primavera y principios del verano y justo al disminuir sus poblaciones aumentaron las de *B. occidentalis*. En las muestras vegetales, se observó que el psílido *T. alacris* estuvo parasitado por un parasitoide del género *Psyllaephagus*. Este parasitoide alcanzó niveles de parasitismo altos (30-40%), a finales de julio en donde se recogieron las muestras vegetales. Algo similar ocurrió con *G. brimblecombei*. A finales de agosto se obtuvieron niveles de parasitismo muy altos (~70%) en una de las localizaciones muestreadas.

Los resultados muestran que existe un complejo de psílidos en nuestros jardines y cultivos que solapan a lo largo del año y que pueden suponer huéspedes alternativos para *T. erytreae* y *D. citri*. Estos datos ayudarán a diseñar un programa de control biológico clásico contra estas dos especies.

Palabras clave

HLB, Psílidos, Control biológico, enemigos naturales.

Design of a strategy for the biological control of *Trioza erytreae* (Del Guercio) and *Diaphorina citri* (Kuwayama)

Student: Mr. Alberto Esteban Cortés

Valencia, November 2016

Academic Tutor: Mr. Rafael Laborda Cenjor

Academic Directors: Mr. César Monzó Ferrer and Mr. Alejandro Tena Barreda

Abstract

The framework of the present work is located within a program of biological control of the psyllids *Trioza erytreae* (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Psyllidae) and *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Liviidae) that transmit bacteria (*Candidatus Liberibacter africanus* and *asiaticus*) causative agents of an incurable disease known as Huanglooming (HLB).

The objective of the work was to characterize phylogenetically close psyllids to these two species present in the Valencian Community. Specifically, the abundance, seasonal evolution and natural enemies of seven species of psyllids were studied using yellow chromatic traps and examining plant material collected at 25 sampling points throughout 2016.

The psyllids studied were by order of abundance *Glycaspis brimblecombei* (Moore) on *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnhardt), *Blastopsylla occidentalis* (Taylor) also on *Eucalyptus camaldulensis* (Dehh), *Trioza alacris* (Flor) on *Laurus nobilis* (Linneo), *Trioza curvatinervis* on *Salix Babilonica* (L.), *Bactericera tremblayi* (Wagner) on *Allium cepa* (L.), *Euphyllura olivina* (Costa) on *Olea europea* (L.).

The seasonal evolution obtained with yellow traps shows that *E. olivina* was more abundant in spring, whereas *B. tremblayi* and *B. occidentalis* were more abundant in summer. The species *G. brimblecombei*, *T. alacris*, *T. curvatinervis* were present and were abundant throughout the sampling, from May to September. It should be noted that *G. brimblecombei* eucalyptus was abundant in spring and early summer and just as its populations increased, *B. occidentalis* increased. In the plant samples, it was observed that the psyllid *T. alacris* was parasitized by a parasitoid of the genus *Psyllaephagus*. This parasitoid reached high levels of parasitism (30-40%), at the end of July, where the plant samples were collected. Something similar happened with *G. brimblecombei*. At the end of August very high parasitism levels (~ 70%) were obtained in one of the sampled locations.

The results show that there is a complex of psyllids in our gardens and crops that overlap throughout the year and may pose alternative hosts for *T. erytreae* and *D. citri*. These data will help design a classical biological control program against these two species

Key words

HLB, Psyllids, biological control, natural enemies.

Índice

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	La citricultura en España.....	1
1.1.1	Importancia social y económica	1
1.1.2	Posicionamiento de la Comunidad Valenciana	1
1.2	EL Huanglongbing de los cítricos	1
1.2.1	Etiología	1
1.2.2	Vectores de la enfermedad	1
1.2.3	Distribución geográfica	2
1.2.4	Síntomas y daños.....	2
1.2.5	Importancia económica	3
2	MÉTODOS DE CONTROL DE HUANGLOGBING.....	3
2.1	Control de la bacteria	3
2.2	Control del vector.....	4
2.2.1	Control químico.....	4
2.2.2	Control biológico.....	4
2.3	Detección de <i>Trioza erytrae</i> en la Península Ibérica. Puesta a punto de programa para la gestión del Huanglonbing y su vector.	5
2.4	Programa de control biológico clásico mediante <i>Tamarixia dryi</i>	6
2.4.1	Condiciones exigidas para la introducción de agentes de control biológico exóticos en España y la Unión Europea	6
2.4.2	Evaluación de riesgos.....	6
2.4.3	Huéspedes alternativos.....	7
3	JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	7
4	MATERIAL Y METODOS	8
4.1	Selección de especies de psílidos y de plantas hospedantes.....	8
4.2	Localizaciones.....	8
4.3	Muestreo.....	10
4.3.1	Muestreo de psílidos adultos	10
4.3.2	Muestreo de parasitoides	10
4.3.3	Análisis estadístico	15
5	RESULTADOS.....	15
5.1	Identificación de especies de psílidos por trampas	15

5.2	Distribución de los psílicos por localizaciones	16
5.3	Evolución estacional de los psílicos.....	17
5.3.1	<i>Glycaspis brimblecombei</i> y <i>Blastopsylla occidentalis</i> sobre eucalipto	17
5.3.2	<i>Trioza alacris</i> sobre laurel.....	19
5.3.3	<i>Trioza curvatinervis</i> sobre sauce.....	19
5.3.4	<i>Bactericera tremblayi</i> sobre cebolla.....	21
5.3.5	<i>Euphyllura olivina</i> sobre olivo	21
5.4	Principales parasitoides	22
5.4.1	<i>Psyllaephagus bliteus</i>	22
5.4.2	<i>Psyllaephagus spp.</i>	24
6	DISCUSION	26
7	CONCLUSIONES	29
8	REFERENCIAS	30

Índice Tablas

Tabla 0.....	2
Tabla 1.....	9
Tabla 2.....	16
Tabla 3.....	23

Índice Figuras

Figura 1.....	10
Figura 2.....	10
Figura 3.....	14
Figura 4.....	14
Figura 5.....	15
Figura 6.....	15
Figura 7.....	18
Figura 8.....	18
Figura 9.....	19
Figura 10.....	20
Figura 11.....	20
Figura 12.....	21
Figura 13.....	22
Figura 14.....	24
Figura 15.....	25
Figura 16.....	25
Figura 17.....	26

1 INTRODUCCIÓN

1.1 La citricultura en España

1.1.1 Importancia social y económica

En la actualidad España se encuentra en la quinta posición en cuanto a producción de cítricos, ocupando el primer lugar dentro de la Unión Europea. En 2015 la superficie dedicada a cítricos fue de un total de 299.518 ha (21.253 ha en secano y 278.265 ha en regadío) (MAGRAMA, 2015).

1.1.2 Posicionamiento de la Comunidad Valenciana

A nivel nacional la Comunidad Valenciana es el principal territorio tanto en superficie, con un total de 162.093 ha (siendo 10.852 ha en secano y 151.241 ha en regadío), como en producción ya que alrededor del 65% de los cítricos españoles se generan en territorio valenciano, exportándose de aquí el 76% del total de España (MAGRAMA, 2015).

La citricultura valenciana ha conseguido ser un referente en cuanto a la sanidad vegetal de sus plantaciones, entre otros aspectos debido a la implantación del sistema de Gestión Integrada de Plagas (GIP), que es una estrategia por la cual el control de éstas se realiza mediante la aplicación racional de medidas tanto biológicas, biotecnológicas, químicas (último recurso), de cultivo o de selección de variedades, de modo que se reduce al mínimo la aplicación de productos (Urbaneja *et al.*, 2016).

1.2 EL Huanglongbing de los cítricos

1.2.1 Etiología

El Huanglongbing (HLB) es una enfermedad que afecta a varias especies de plantas cultivadas del género *Citrus* y cuyo organismo causal es la bacteria *Candidatus Liberibacter*, de la que se han descrito tres especies: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, tolerante al calor y distribuida en Asia y América; *Candidatus Liberibacter africanus*, sensible al calor y localizada en algunos África y archipiélagos cercanos a éste continente; *Candidatus Liberibacter americanus*, detectada en Brasil y citada en Asia (Teixeira *et al.*, 2005 a, b; Bové, 2006).

1.2.2 Vectores de la enfermedad

Se han clasificado dos insectos como vectores de esta enfermedad, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y *Trioza erytreae* (Del Guercio) (Hemiptera: Triozidae). *Diaphorina citri* geográficamente está asociado a *Ca. L. asiaticus* y *Ca. Liberibacter americanus* mientras que *T. erytreae* aparece asociado a *Ca. L. africanus*, sin embargo, ambos vectores son capaces de

adquirir, replicar y transmitir las tres especies de bacteria. A través de la alimentación de una planta infectada (aun encontrándose en estadios ninfales) la bacteria presente en el floema de la planta se trasfiere al psílido adquiriendo éste la capacidad de infección al resto de hospedantes de los que se alimente a lo largo de su vida (Bové, 2006).

Tabla 0. Biología de *Diaphorina citri* y *Trioza erytreae*.

Especie	Longevidad adulto	Nº de estadios ninfales	Tamaño adulto	Tamaño ninfas	Nº de huevos	Ciclo de vida	Tª óptima de desarrollo
D. citri	40 días	5 instares ninfales	3-4 mm	1,5-1,7 mm	8 x día, 800 en toda la vida.	15-47 días	24-28 °C.
T. erytreae	30 días	5 instares ninfales	4 mm	1,3-1,5 mm	2000 en toda su vida.	17-43 días	20-24 °C.

Fuente: DGSV SENASICA (2011).

1.2.3 Distribución geográfica

El HLB se encuentra en al menos 40 países de tres de los cinco continentes. La bacteria *Ca. L. asiaticus* en América ha sido descrita en los países de Belice, Cuba, Costa Rica, Estados Unidos, Guatemala, Honduras, Jamaica, Nicaragua y Honduras. Sobre Asia se localiza en Bangladesh, Bhután, Birmania (Myanmar), Camboya, China, Filipinas, India, Indonesia, Japón, Laos, Malasia, Nepal, Papúa Nueva Guinea, Paquistán, Tailandia, Taiwán, Timor oriental y Vietnam. La especie *Ca. L. africanus* en Africa está presente en los países de Burundi, Camerún, Isla Mauricio, Kenya, Madagascar, Malawi, Nigeria, República Centroafricana, Reunion, Rwanda, Somalia, Sudáfrica, Swaziland, Tanzania, Zimbabwe. En algunos países se han reportado dos de las especies de esta bacteria. En Brasil se ha encontrado tanto *Ca. L. asiaticus* como *Ca. L. americanus* mientras que en Arabia Saudita, Etiopía y Yemen están presentes *Ca. L. asiaticus* y *Ca. L. africanus* (Bové, 2006; García Darderes, 2009; Santivañez *et al.*, 2013).

1.2.4 Síntomas y daños

Los primeros síntomas observables en plantas afectadas son el amarilleamiento de las nervaduras de las hojas así como un moteado asimétrico en relación a la nervadura central, que no queda limitado por los espacios internerviales. Esta sintomatología puede ser confundida con deficiencias de Zinc, Hierro, Manganeso aunque en estos casos los síntomas suelen ser simétricos. Conforme evoluciona la enfermedad, todo el brote toma un aspecto clorótico. Como la bacteria se desarrolla en el floema, inicialmente las ramas sintomáticas aparecen también de forma asimétrica en la copa del árbol. Con el tiempo, prácticamente todo el sistema vascular se ve afectado y la planta acaba sufriendo una defoliación severa que puede incluso llegar a causar su muerte. Los frutos afectados por la enfermedad son de pequeño tamaño y se observa una coloración irregular o una inversión del color durante la maduración. También pueden aparecer

deformaciones mostrando asimetrías en el eje central y semillas atrofiadas y/o abortadas. Si no se toma ningún tipo de medida, y la planta está expuesta a continuas reinoculaciones de bacteria por parte del vector, desde que aparecen los primeros síntomas sobre el árbol hasta que se vuelve improductivo pueden pasar apenas 2 – 6 años (Bové, 2006).

La rápida dispersión de la enfermedad y el mimetismo que adquiere con deficiencias minerales que pueden mostrar los cultivos así como con *Xylella fastidiosa* que es una enfermedad bacteriana transmitida por insectos chupadores, también incluida en la lista A1 de la EPPO (Organización Europea para la protección de las Plantas) hace que pueda causar confusiones de detección y la convierte una de las enfermedades más importantes y destructivas de los cítricos.

1.2.5 Importancia económica

El HLB es probablemente la enfermedad más importante de la citricultura en términos económicos. Debido a la severidad de ésta y a la ausencia de métodos de control eficaces, aquellas áreas en donde se establece, los sistemas productivos se ven fuertemente afectados, los costes de producción se incrementan considerablemente y el rendimiento productivo se ve rápidamente reducido. Además, los intensivos programas de control químico que suelen implementarse para gestionar sus vectores pueden afectar de manera importante al medio ambiente y a la fauna útil asociada a este cultivo. Como ejemplo del impacto económico que va asociado al HLB, Hodges y Spreen (2012) estimaron que en Florida, tras los primeros 5 años de convivencia con el HLB después su detección en 2005, la producción citrícola se vio mermada en un 23%, lo que se tradujo en unas pérdidas de 1700 millones de dólares y la destrucción de más de 8000 puestos de trabajo asociados de manera directa o indirecta con la industria citrícola.

Los efectos destructivos de esta enfermedad en la industria citrícola de aquellas zonas donde ha sido detectada subrayan la necesidad de desarrollar con urgencia un programa preventivo de gestión de ésta y sus vectores en nuestra citricultura, tras la reciente detección de uno de sus vectores (Bové, 2006).

2 MÉTODOS DE CONTROL DE HUANGLOGGING

2.1 Control de la bacteria

Aunque se ha demostrado que es posible eliminar la bacteria con antibióticos, a fecha de hoy, no existen disponibles métodos de control de la bacteria que sean totalmente eficaces y económicamente viables. Por esta razón, las estrategias gestión del HLB se orientan en la prevención y gestión integrada del cultivo. Las medidas se centran en la siembra de plántulas certificadas, identificación y destrucción de árboles sintomáticos para así reducir el inóculo en

campo y sobre todo, el control de los vectores (Grafton-Cardwell *et al.*, 2013). No obstante, las investigaciones biotecnológicas para el control de la enfermedad están enfocadas en la búsqueda de genes de resistencia.

2.2 Control del vector

2.2.1 Control químico

Para una contención eficaz del HLB, es necesario un control exhaustivo de sus vectores. A día de hoy, el método más eficaz para poder llevarlo a cabo es el uso frecuente de insecticidas. Sin embargo, este tipo de aproximación puede tener consecuencias negativas sobre el medio ambiente, la salud humana y además, dificulta la aplicación de los principios de gestión integrada de cítricos, que además, desde enero de 2012 son de obligatorio cumplimiento (Real Decreto 1311/2012).

Los programas de gestión química de los vectores del HLB, deberán por lo tanto buscar un control efectivo del vector pero a su vez, respetando al máximo la fauna útil del cultivo (Monzó *et al.*, 2014) y reduciendo al máximo los riesgos de desarrollo de resistencias a las materias activas utilizadas (Tiwarei *et al.*, 2011) Para ello, se deberán seleccionar aquellos productos que sean eficaces en el control y respetuosos con aquellos grupos de enemigos naturales claves del cultivo (Urbaneja *et al.*, 2016), y se deberá alternar el mayor número de modos de acción de insecticidas de acuerdo con las recomendaciones de IRAC.

Existe una plétora de estudios que evalúan eficacia, efectos secundarios y desarrollo de resistencias con muchas materias activas utilizadas para el control de *D. citri*. Sin embargo, el número de estudios que evalúan estos parámetros con *T. erytrae* son escasos y además antiguos, por lo que las mayoría de materias activas noveles no han sido estudiadas. En España, el MAGRAMA solo autoriza para el control de *T. erytrae* el neonicotinoide con nombre comercial “Actara 25 WG”, el cual contiene un 25% de la materia activa *Tiametoxam*. El uso de otras materias activas como Imidacloprid al 20% indicado para pulgones y mosca blanca están mostrando buenos resultados (Hernández *et al.*, 2013). Las recomendaciones para los tratamientos son aplicar en la brotación y hacerlo cuando los factores climáticos son favorables para el desarrollo del psílido que son las temperaturas bajas y una humedad alta, se busca de esta manera que el tratamiento sea lo más eficiente.

2.2.2 Control biológico

2.2.2.1 Programas de control biológico clásico

Dentro del actual contexto de gestión integrada de plagas, de obligado cumplimiento en todos los sistemas agrícolas en España (Real Decreto 1311/2012), el control biológico ha de ser uno

de los pilares en los programas de gestión del HLB y sus vectores. El control biológico clásico consiste en la introducción de un agente de control biológico exótico dentro de un área donde se ha expandido una nueva plaga, con la finalidad de que éste se establezca y ayude al control parcial o total de la plaga (Urbaneja *et al.*, 2016). Desde finales del siglo XIX, se han implementado a nivel mundial más de 5000 programas de CB clásico con un 25% de éxito en el establecimiento del agente introducido y con unos ratios de beneficios:costes de entre un 5:1 y un 1:000, muy superiores a los estimados para la introducción de cualquier plaguicida (Naranjo *et al.*, 2015).

Los himenópteros *Tamarixia radiata* (Waterston) y *Tamarixia dryi* (Del Guercio) (Hymenoptera: Eulophidae) son parasitoides altamente específicos de *D. citri* y *T. erytrae* respectivamente, que han sido utilizados en programas de CB clásico en numerosas zonas cítricas afectadas por el HLB. La introducción de *T. dryi* en Isla de la Reunión, es de hecho, el único caso documentado de erradicación de *T. erytrae* en una zona previamente invadida por esta plaga (Van den Verg y Greenland, 2000). Sin embargo, no siempre ha habido éxito en la implementación de estos programas. En el caso de *T. radiata*, con el que recientemente se han implementado varios programas de CB clásico en América, se han obtenido resultados positivos en California (Kistner y Hoodle, 2015) y sin embargo resultados más variables en Florida (McFarland y Hoy, 2001; Hoy *et al.*, 2004; Qureshi y Stansly, 2010).

A la hora de implementar un programa de CB clásico como herramienta de gestión del HLB, es por lo tanto importante estudiar cuáles son los factores que determinarán su éxito o fracaso, así como cuáles son los riesgos ambientales asociados a la introducción del agente de control biológico.

2.3 Detección de *Trioza erytrae* en la Península Ibérica. Puesta a punto de programa para la gestión del Huanglongbing y su vector.

En 2014 se detectó a *T. erytrae* en territorio ibérico en las localidades de Pontevedra, La Coruña y Oporto (Pérez Otero *et al.*, 2015). Frente al impacto devastador que podría ocasionar la presencia del HLB a la citricultura presente en nuestro país, desde la Generalitat Valenciana se creó un comité de expertos en sanidad vegetal para que conformara estrategias con el fin de evitar la diseminación del psílido así como la protección contra su entrada.

Actuaciones para evitar la dispersión de la plaga en el territorio de la UE

En la Directiva 2000/29 consta como requisito para el movimiento de material vegetal dentro la UE que éste venga de Áreas Libres de *T. erytrae*.

Realizar muestreos de todo material vegetal sospechoso de estar infectado por la bacteria y corroborar si existe o no mediante análisis en laboratorio la presencia de HLB.

Actuaciones donde se ha detectado la presencia del psílido (Galicia y Portugal)

Para evaluar de forma precisa la dispersión del vector se están aumentando los muestreos a zonas periféricas de donde ya se conoce su presencia. Al mismo tiempo se están recolectando psílicos para determinar la presencia o ausencia de HLB.

Se está llevando a cabo también estrategias de erradicación en las zonas donde ha sido detectada la presencia del psílido, mediante tratamientos fitosanitarios coordinados y realizados desde la administración pública.

Actuaciones en la Comunidad Valenciana

A día de hoy la Comunidad Valenciana está libre de *T. erytraeae*. Como medidas preventivas, se ha incrementado los puntos de control del Plan de Vigilancia fitosanitaria cítrica con la finalidad de poder realizar detecciones tempranas si el psílido alcanza nuestra zona cítrica, y también se han intensificado los controles de todo material vegetal de la familia Rutaceae, proveniente de fuera de nuestro territorio.

2.4 Programa de control biológico clásico mediante *Tamarixia dryi*

2.4.1 Condiciones exigidas para la introducción de agentes de control biológico exóticos en España y la Unión Europea

Para la importación de cualquier agente de control biológico exótico la Dirección General de Sanidad de la Producción Agraria deberá requerir un informe al órgano competente de la Administración General del Estado en materia de conservación de la biodiversidad, para lo cual solicitará del interesado la aportación de los justificantes necesarios que así considere el citado órgano. Los operadores presentarán la oportuna solicitud en el modelo previsto en el anexo I.B, para cada organismo de control biológico exóticos, acompañada del justificante del pago de las tasas fitosanitarias conforme al artículo 67 de la Ley 43/2002, de 20 de noviembre, y de la oportuna documentación. (BOE núm. 303, martes 16 septiembre de 2014).

2.4.2 Evaluación de riesgos

La evaluación de riesgos ambientales asociados a la introducción de un agente de control biológico exótico, debe contemplar todo el país ya que podrían producirse impactos sobre organismos que no sean el objetivo por lo que se requerirá toda la bibliografía que pudiera ser aportada. En este sentido, será importante conocer cuál es el grado de especificidad del agente de control biológico que va a ser introducido, según lo observado en su zona de origen y otras

áreas donde ha sido introducido, y por otro lado, también será importante conocer cuáles son los organismos no diana presentes en nuestro territorio que podrían verse afectados por la presencia de nuevo agente de control biológico.

2.4.3 Huéspedes alternativos

En relación a la evaluación de riesgos, como paso preliminar para la implementación del programa de CB clásico con *T. dryi* en nuestro territorio, es por lo tanto fundamental confeccionar una lista de los organismos huésped no objetivo que pudieran verse afectados. En ésta aparecerán aquellos psílicos autóctonos que podrían verse perjudicados por la introducción del agente de control biológico, pero también aquellas especies de psílicos exóticas que invadieron y alteraron nuestros ecosistemas en un pasado, que en ocasiones su presencia supone un daño económico, y que sus poblaciones también podrían verse afectadas por la presencia del nuevo agente de control biológico. La información obtenida deberá contrastarse con aquella de otros estudios realizados con *T. dryi* en otras zonas donde ya está presente. Con todos estos datos se intentará predecir cuáles son los efectos que su introducción podría tener sobre i) el organismo diana, ii) otro psílicos no diana presentes en nuestros ecosistemas, iii) sobre las especies vegetales utilizadas como fuente de alimento por todas las especies de psílicos estudiadas.

3 JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

El presente marco legal en el que se contextualiza actualmente la producción citrícola en nuestro país, exige de medidas medioambientalmente no agresivas, y compatibles con la actual gestión integrada de plagas de este cultivo a la hora controlar y contener los vectores del HLB. En este contexto, la implementación de un programa de CB clásico con el parasitoide *T. dryi* se presenta como una de las herramientas más adecuada para este fin. La implementación de este tipo de programas necesita de una serie de estudios minuciosos preliminares, sobre los posibles riesgos y beneficios asociados a la introducción del nuevo agente de control biológico. Por ello, el presente trabajo, tiene por objetivos:

- Determinar las especies de psílicos presentes en nuestros cítricos y en otros ecosistemas que coexisten en la región citrícola de la Comunidad Valenciana.
- Determinar los aspectos básicos de su fenología estacional, fundamentales para compararlos con los de *T. erytrae*.
- Conocer cuáles son los agentes de control biológico asociados a las especies de psílido presentes en nuestros ecosistemas, con especial énfasis en los himenópteros parasitoides.

- Utilizar la información obtenida de los objetivos 1, 2 y 3 para interpretar de qué manera las especies de psílicos presentes en nuestros ecosistemas podrían verse perjudicadas por la presencia de *T. dryii*, o cómo por otro lado, la presencia de estos potenciales hospedadores alternativos podrían favorecer el éxito del programa de control biológico clásico con *T. dryii*.

4 MATERIAL Y METODOS

4.1 Selección de especies de psílicos y de plantas hospedantes

Los psílicos objeto del estudio fueron seleccionados por su proximidad filogenética con *T. erytrae* o *D. citri*, es decir, teniendo en cuenta los caracteres más primitivos que confirman sus relaciones de parentesco y por su conocida presencia en la Comunidad Valenciana. Al tratarse de psílicos muy específicos los cultivos y plantas ornamentales seleccionados quedaron supeditados a las especies de psílicos. Teniendo en cuenta estas dos características los psílicos y plantas monitoreados fueron *Glycaspis brimblecombei* (Moore) y *Blastopsylla occidentalis* (Taylor) sobre eucalipto [*Eucalyptus camaldulensis* (Dehnhardt)], *Trioza alacris* (Flor) sobre laurel [*Laurus nobilis* (Linneo)], *Trioza curvatinervis* (Foerster) sobre sauce [*Salix babilónica* (L.)], *Bactericera tremblayi* (Wagner) sobre cebolla [*Allium cepa* (L.)] y *Euphyllura olivina* (Costa) sobre olivo [*Olea europea* (L.)] con el fin de obtener sus respectivas curvas de vuelo.

4.2 Localizaciones

Para cada hospedante se seleccionaron entre dos y cuatro parcelas o jardines de la provincia de Valencia para realizar el muestreo. Por último, a pesar de que los cítricos no albergan actualmente ninguna especie de psílido, se muestrearon tres parcelas de cítricos con cubierta vegetal para identificar posibles especies de psílicos que se puedan desarrollar sobre las plantas de la cubierta vegetal.

Tabla 1. Plantas huésped, localización y número de trampas muestreadas para cada una de las especies de psílidos.

Planta huésped	Especie psílido	Localización	Coordenadas UTM (Huso: 30)	Nº de trampas
Eucalipto	<i>Glycaspis brimblecombei</i> y <i>Blastopsylla occidentalis</i>	Valencia (Parque de Nazaret)	X: 729584,18 m Y: 4369365,81 m	3
		Valencia (Jardines del Turia)	X: 725652,94 m Y: 4373491,16 m	3
		Valencia (Paseo de Albereda)	X: 727313,95 m Y: 4371411,52 m	3
		Moncada (Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, IVIA)	X: 723732,37 m Y: 4385270,97 m	3
Laurel	<i>Trioza atacris</i>	Valencia (Paseo Marqués del Turia)	X: 726006,95 m Y: 4371699,80 m	3
		Moncada (IVIA)	X: 723477,23m Y: 4385191,91m	3
		Valencia (Parque de Benicalap)	X: 723804,30 m Y: 4375167,74 m	3
		Valencia (Universidad Politécnica de Valencia, UPV)	X: 728883,07 m Y: 4373555,56 m	3
Sauce	<i>Trioza curvatínervis</i>	Valencia (Parque de Nazaret)	X: 729681,34 m Y: 4369475,89 m	3
		Valencia (Jardines del Turia)	X: 724512,44 m Y: 4373126,88 m	3
		Valencia (UPV)	X: 728738,09 m Y: 4373762,91 m	3
		Quart de poblet (Rivera del Turia)	X: 720091,72 m Y: 4373702,95 m	4
		Valencia (Parque de Marxalenes)	X: 725116,44 m Y: 4374126,50 m	3
Cebolla	<i>Bactericera termblayi</i>	Alboraia	X: 729173,64 m Y: 4376792,00 m	4
		Alcàsser	X: 719764,86 m Y: 4363634,92 m	4
Olivo	<i>Euphyllura olivina</i>	Moncada (IVIA)	X: 723676,17 m Y: 4384916,53 m	4
		Náquera (Mont-ros)	X: 719972,88 m Y: 390276,32 m	4
		Náquera (Pla de l'Estepar)	X: 720906,83 m Y: 4388936,12 m	4
		Bétera (La Fonteta)	X: 722995,47 m Y: 4393641,23 m	4
Citrus		Bétera	X: 720907,46m Y: 4385835,47m	4
		Algimia	X: 730044,13m Y: 4399568,73m	4
		Quartell	X: 734568,29m Y: 4402889,40m	4

4.3 Muestreo

4.3.1 Muestreo de psílidos adultos

Para identificar y conocer tanto la abundancia relativa como la evolución estacional de los psílidos, se realizó un muestreo con trampas cromáticas de color amarillo con adhesivo por unas de las caras y de medidas 17.5 x 22cm (nombre comercial: “Impact” de la empresa Russell IPM).

Las trampas se cambiaron cada 15 días entre los meses de mayo y septiembre y se colocaron entre tres y cuatro trampas en cada localización. Las trampas se colgaron de las ramas de los árboles o arbustos. En los cultivos hortícolas éstas se dispusieron enganchadas sobre cañas clavadas en el suelo a una altura aproximada de 40cm del suelo. Las trampas siempre estuvieron situadas en el mismo lugar dentro de la parcela o jardín. Antes de trasportarlas al laboratorio las trampas se cubrieron con plástico transparente y se etiquetaron con la fecha y el nombre de la parcela o jardín y localización dentro de la parcela.

Una vez en el laboratorio, se identificaron y cuantificaron los psílidos bajo lupa binocular con ayuda de las claves propuestas por Pérez Hidalgo *et al.* (2015). Cuando las trampas no se pudieron procesar el mismo día de su recolección, se mantuvieron a 5°C para la conservación de los insectos en las que quedaron adheridos los insectos hasta su identificación.



Figura 1. Binocular.



Figura 2. Trampas utilizadas en el muestreo.

4.3.2 Muestreo de parasitoides

Para la identificación de las especies de himenópteros parasitoides asociados a las especies de psílidos estudiadas, en cada una de las localizaciones, se recogieron entre cuatro y seis brotes de las plantas hospedadoras infestados con ninfas de psílidos de una longitud comprendida entre 10 y 15 cm en cada uno de los muestreos en los que se encontraron brotes infestados tras una

observación de las plantas de diez minutos. Los brotes se introdujeron en bolsas de plástico cerradas herméticamente y se llevaron al laboratorio. Una vez allí, los brotes infestados se observaron bajo lupa binocular para confirmar la presencia de las ninfas así como para eliminar otros fitófagos de los cuales pudieran emerger himenópteros parasitoides no asociados a la especie de psílido estudiada. Tras este paso los brotes se introdujeron en recipientes de plástico de 14 x 14 x 5 cm con una apertura de muselina para permitir la aireación y normal desarrollo de los parasitoides capturados (**Figura 4**). Los recipientes con las muestras se dejaron en el laboratorio bajo condiciones de temperatura controladas (T^a aproximada de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$) durante 20-22 días hasta la emergencia de los parasitoides adultos. Una vez pasado este periodo, las muestras vegetales se congelaron durante 24h para evitar la fuga de los parasitoides y psílicos que estuvieran vivos y posteriormente se tamizaron para separarlos insectos de los restos vegetales (**Figura 5**).

Las muestras tamizadas se pusieron en placas Petri de 20 cm de diámetro y bajo lupa binocular se identificó y cuantificó los parasitoides emergidos así como los adultos de psílicos. La identificación de especies de parasitoides se realizaron con la “Clave de géneros Encyridae Hymenoptera: Chalcidoidea de México y un Catálogo de las Especies”, de Trjapitzin *et al.* (2008) y la publicación de Plascencia González *et al.* (2005).

En total se procesaron 22 muestras de material vegetal con ninfas de psílicos: 14 muestras de laurel infestadas con ninfas de *T. alacris* y 8 muestras de eucalipto infestadas con ninfas de *G. brimblecombei* (**Figura 6**). Con los datos obtenidos se determinó la evolución estacional de los parasitoides y el porcentaje de parasitismo calculado como: número de parasitoides / número de parasitoides + número de psílicos.

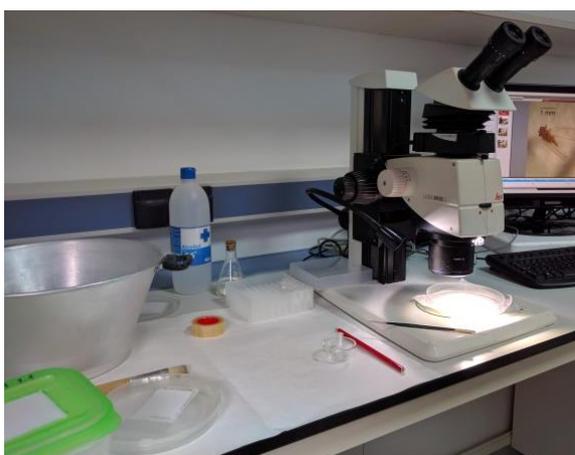


Figura 3. Binocular para la identificación de parasitoides en las muestras vegetales tras el periodo de evolución.



Figura 4. Evolucionario.



Figura 5. Tamiz.



Figura 6. Lerps de *Glycaspis brimblecombei* parasitados por *Psyllaephagus bliteus*.

4.3.3 Análisis estadístico

Para determinar si había diferencias significativas de abundancia de psílidos entre las localizaciones de estudio que albergaban los mismos hospedantes se realizaron análisis de varianza (ANOVA). Para cada localización se sumó el número total de individuos capturados a lo largo del año en cada una de las trampas, tomando la trampa (refiriéndose a la localización de la trampa dentro de la parcela o jardín) como repetición.

5 RESULTADOS

5.1 Identificación de especies de psílidos por trampas

Se identificaron un total de 39.226 psílidos (Tabla 2). Los psílidos *G. brimblecombei* y *B. occidentalis* con 17.469 (44,53% del total de psílidos contabilizados) y 11.969 (30,51%) individuos capturados respectivamente en trampas puestas en jardines con eucaliptos, fueron los, más abundantes de este estudio, seguidos por *T. alacris* con 9.018 individuos (22,9% del total) capturados en trampas puestas en jardines con laurel. Los 770 especímenes restantes se repartieron de mayor a menor número en *T. curvatinervis* en sauce, con 420 (1,07%), *B. termblayi* en cebolla, con 222 (0,57%), *E. olivina* en olivo, con 89 (0,23%) y por último, en las tres parcelas de cítricos se capturaron especímenes 11 de psílidos de las siguientes especies. Los 11 psílidos encontrados en las trampas de distintos cítricos se descartaron que fueran *T. erytrea* y *D. citri*. Los seis psílidos encontrados en la localización de Bétera fueron tres *T. alacris* y tres *G. brimblecombei*, ambas especies han sido descritas en Valencia y su captura en las trampas

puede deberse a la proximidad de laureles o eucaliptos por la zona. Lo mismo pudo ocurrir en la localización de Algimia, donde los tres psílicos resultaron ser *T. alacris*. En la localización de Quartell los psílicos se clasificaron como *G. brimblecombei*.

Tabla 2. Número total de psílicos de cada especie y número medio por trampa (\pm EE) capturados con trampas cromáticas adhesivas en diferentes localizaciones a lo largo de 2016.

Especie psílido (Planta huésped)	Localización	Nº total psílicos	Nº medio psílicos / trampa
<i>Glycaspis brimblecombei</i> (Eucalipto)	Valencia (Parque de Nazaret)	12796	426,43
	Valencia (Jardines del Turia)	3553	131,59
	Valencia (Paseo de l'Albereda)	958	35,48
	Moncada (IVIA*)	162	5,4
<i>Blastopsylla occidentalis</i> (Eucalipto)	Valencia (Jardines del Turia)	4992	184,88
	Valencia (Parque de Nazaret)	3808	126,93
	Valencia (Paseo de l'Albereda)	2969	95,14
	Moncada (IVIA*)	200	6,66
<i>Trioza alacris</i> (Laurel)	Valencia (Paseo Marqués del Turia)	3662	135,62
	Moncada (IVIA*)	2450	116,66
	Valencia (UPV**)	1818	62,68
<i>Trioza curvatineris</i> (Sauce)	Valencia (Parque de Nazaret)	120	4,44
	Valencia (Jardines del Turia)	87	3,34
	Valencia (UPV**)	99	2,61
	Quart de Poblet (Rivera del Turia)	89	2,47
	Valencia (Parque de Marxalenes)	25	0,92
<i>Bactericera tremblayi</i> (Cebolla)	Alboraia	199	8,29
	Alcàsser	59	2,18
<i>Euphyllura olivina</i> (Olivo)	Moncada (IVIA*)	23	1,15
	Náquera (Mont-ros)	13	0,54
	Náquera (Pla de l'Etepar)	12	0,42
Psílicos capturados en las parcelas de cítricos	Bétera	6	0,21
	Algimia	3	0,11
	Quartell	2	0,07
Total		39226	

* Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias

** Universidad Politécnica de Valencia

5.2 Distribución de los psílicos por localizaciones

El número de individuos adultos de *G. brimblecombei* capturados desde el 9 de mayo hasta el 13 de septiembre vario significativamente entre todas las parcelas de eucaliptos donde se pusieron trampas ($F_{3, 11} = 5,56$; $P = 0,023$) siendo mayor en la localización del parque de Nazaret y menor en las zonas verdes del IVIA (**Tabla 2**).

El número de individuos adultos de *B. occidentalis* capturados desde el 9 de mayo hasta el 13 de septiembre fue similar en todas las parcelas de eucaliptos donde se pusieron trampas ($F_{3, 11} = 2,29$; $P = 0,15$) (**Tabla 2**).

El número de individuos adultos de *T. alacris* capturados desde el 13 de mayo hasta el 16 de septiembre no resultaron variar de manera significativa en las parcelas de laureles ($F_{3, 11} = 0,25$; $P = 0,85$) (**Tabla 2**).

El número de individuos adultos de *T. curvatinervis* capturados desde el 13 de mayo hasta el 16 de septiembre fue similar durante todo el trabajo en las parcelas de los sauces ($F_{4, 16} = 1,54$; $P = 0,25$) (**Tabla 2**).

El número de individuos adultos de *B. tremblayi* capturados desde el 12 de mayo hasta 20 de julio vario significativamente entre las parcelas de cebolla donde se pusieron trampas ($F_{1, 7} = 21,09$; $P = 0,0037$) (**Tabla 2**), siendo mayor en la parcela de Alboraiá que en la de Alcàsser.

El número de individuos adultos de *E. olivina* capturados desde el 9 de junio hasta el 15 de septiembre resultó mostrar diferencias significativas en las parcelas monitoreadas para olivos, siendo mayor en la localización del PLA y menor en número en la de RIC ($F_{3, 15} = 5,05$; $P = 0,017$) (**Tabla 2**).

5.3 Evolución estacional de los psílidos

5.3.1 *Glycaspis brimblecombei* y *Blastopsylla occidentalis* sobre eucalipto

Los psílidos *G. brimblecombei* y *B. occidentalis* mostraron dinámicas diferentes en las cuatro localizaciones siendo el primero abundante hasta agosto mientras que *B. occidentalis* se capturó principalmente en agosto y septiembre (**Figura 7 y 8**). *Glycaspis brimblecombei* tuvo un máximo desde finales de mayo hasta finales de julio, si bien en el parque de Nazaret en Valencia parece que hubo dos uno a principios de junio y el otro entre julio y agosto. En los Jardines del Turia y en el Paseo de l'Albereda se dio claramente un solo máximo y este se produjo a principios de julio (**Figura 7**).

La dinámica de *B. occidentalis* fue muy similar en tres de las localizaciones, con el máximo de capturas mencionado en agosto (**Figura 8**). En la localización del IVIA en Moncada (la única fuera de la ciudad de Valencia) prácticamente no se capturaron adultos de *B. occidentalis*.

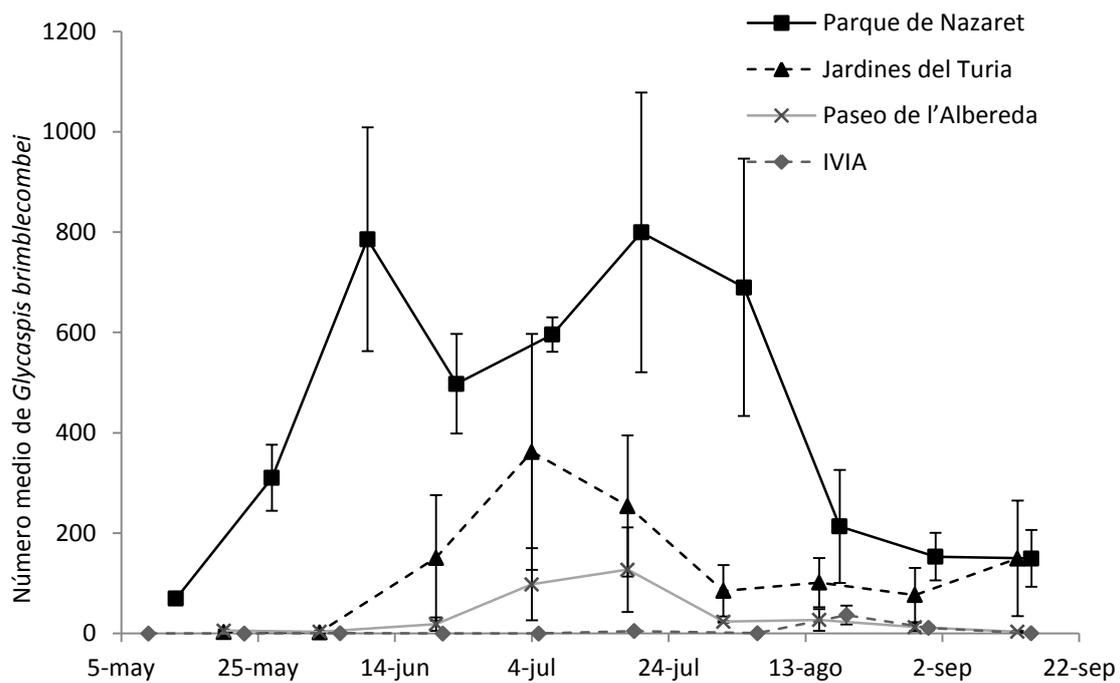


Figura 7. Evolución estacional de *Glycaspis brimblecombei* sobre cuatro parcelas de eucaliptos localizadas en los territorios de Valencia y Moncada a lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla.

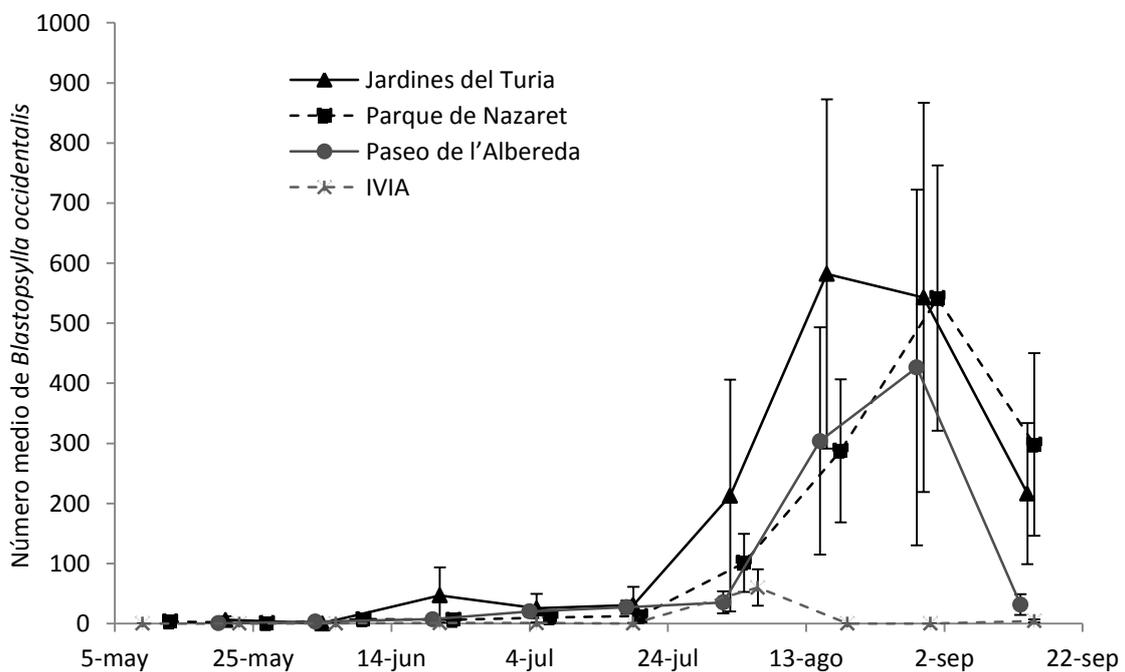


Figura 8. Evolución estacional de *Blastopsylla occidentalis* sobre cuatro parcelas de eucaliptos localizadas en los territorios de Valencia y Moncada a lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla.

5.3.2 *Trioza alacris* sobre laurel

Tres de las cuatro localizaciones presentaron máximos de vuelo en primavera entre mayo y julio. En estas tres localizaciones las capturas fueron muy bajas en agosto y septiembre (**Figura 9**). En el IVIA, en cambio, hubo dos máximos de capturas, uno entre junio y julio y otro en septiembre. En el paseo de Marqués del Turia se contó el mayor número de psílicos, llegando a un máximo de 308 individuos (**Figura 9**). En ésta localización la estructura de la planta huésped del insecto es en setos de no más 1,5m de altura, y es probable que el insecto encontrara condiciones más favorables en dicha formación.

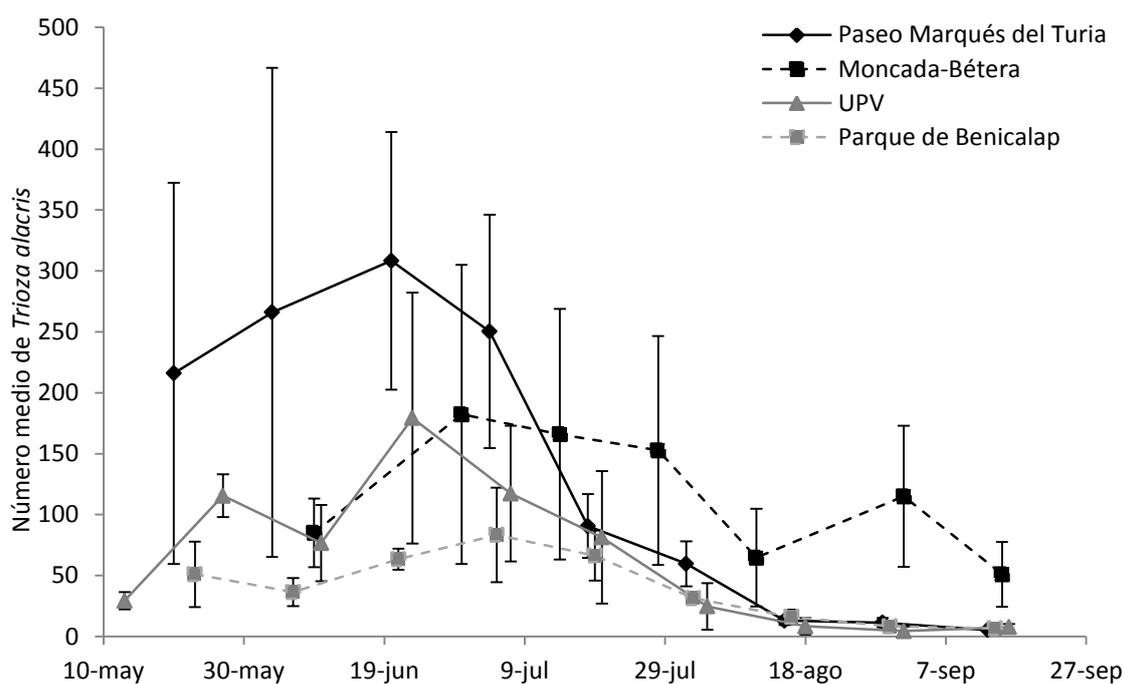


Figura 9. Evolución estacional de *Trioza alacris* sobre las cuatro parcelas de laureles localizadas en los territorios de Valencia y Moncada lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla

5.3.3 *Trioza curvatinervis* sobre sauce

Trioza curvatinervis mostro dos curvas de vuelo diferente en función de la localización (**Figura 10 y 11**). En el parque de Nazaret y Quart de Poblet *T. curvatinervis* mostro un máximo a mediados de junio y otro menor y más variable en agosto (**Figura 10**). En los jardines del Turia y de la UPV las poblaciones permanecieron bajas a los largo del muestreo y no se pueden ver con claridad los máximos observados en las localizaciones anteriores (**Figura 11**).

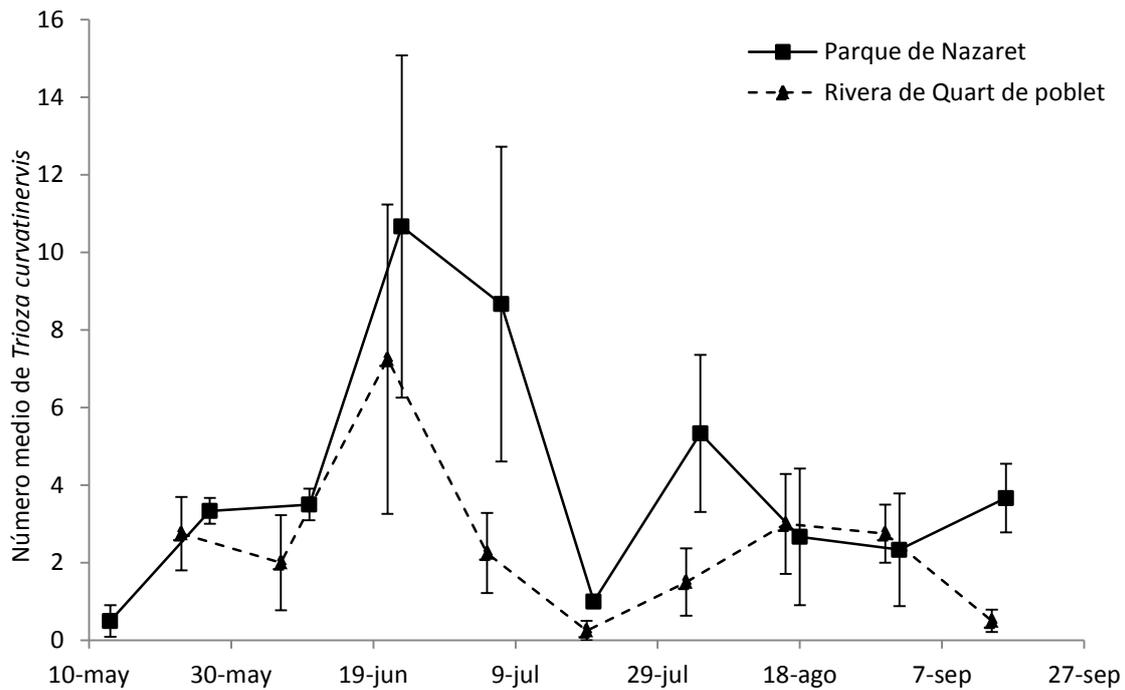


Figura 10. Evolución estacional de *Trioza curvatinerivis* sobre las dos parcelas de sauces localizadas en los territorios de Valencia y Quart de Poblet lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla

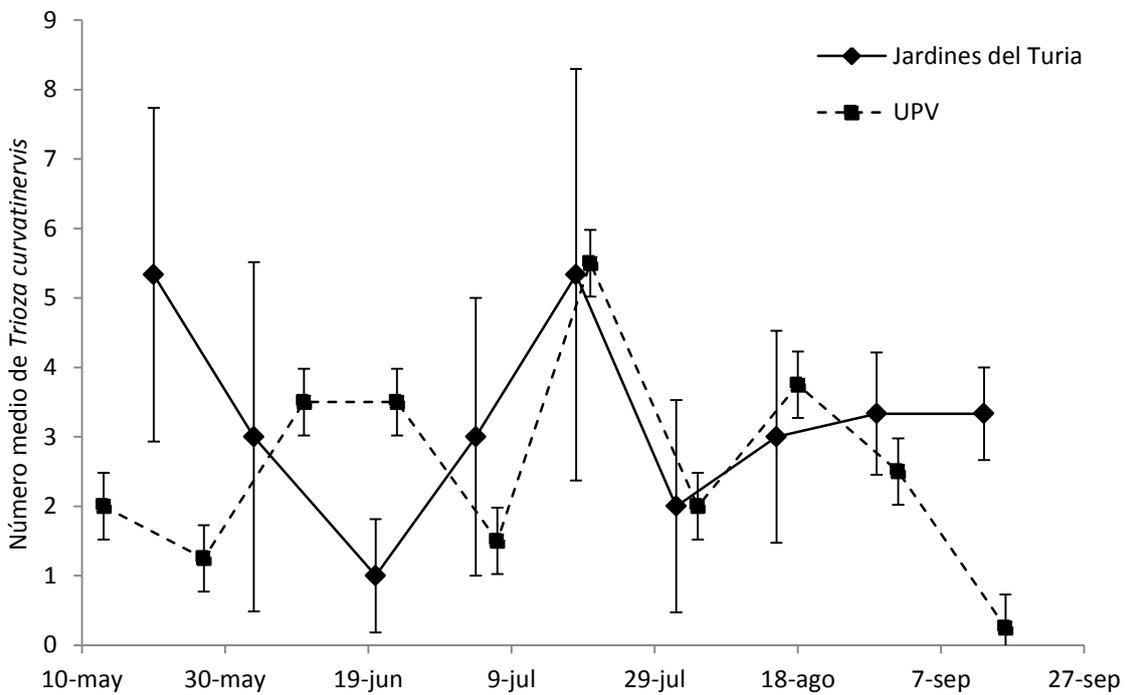


Figura 11. Evolución estacional de *Trioza curvatinerivis* sobre las dos parcelas de sauces localizadas en el territorio de Valencia a lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla.

5.3.4 *Bactericera tremblayi* sobre cebolla

Los primeros individuos adultos de *B. tremblayi* se capturaron en el mes de junio en las dos parcelas muestreadas (**Figura 12**). El máximo poblacional se produjo en el segundo tercio del mes de junio y fue mayor en la parcela de Alcàsser, donde las poblaciones capturadas también diferían considerablemente entre trampas. En el mes de julio se continuaron capturando individuos en la parcela de Alcàsser pero no en la de Alboria.

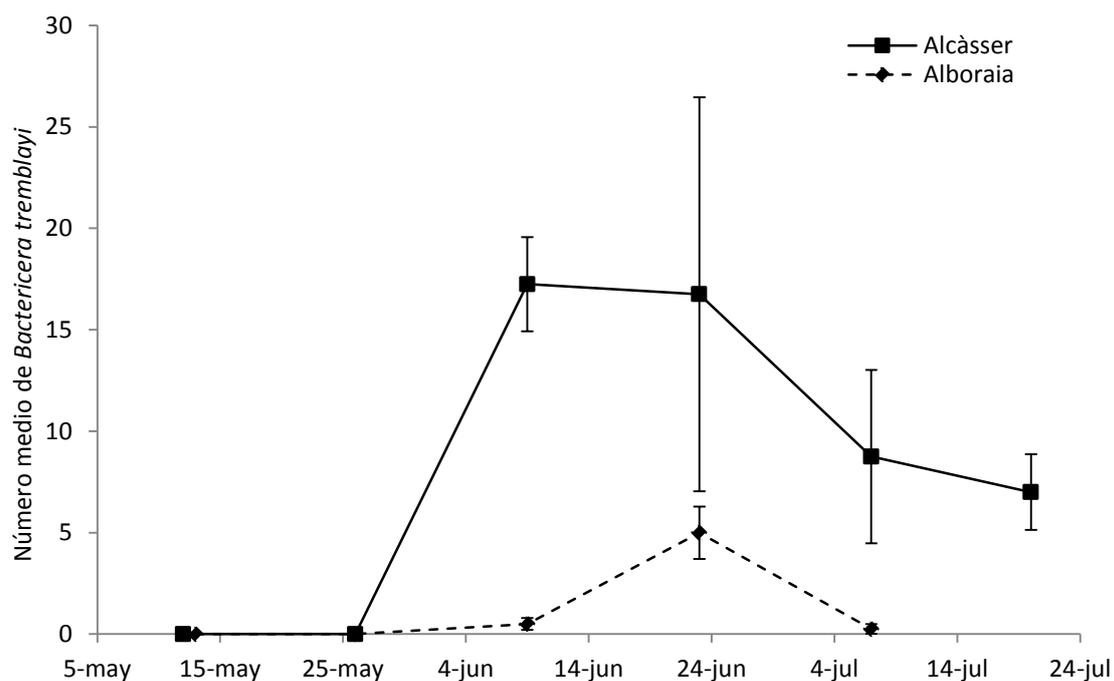


Figura 12. Evolución estacional de *Bactericera tremblayi* sobre dos parcelas de cebolla localizadas en los territorios de Alboria y Alcàsser a lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla.

5.3.5 *Euphyllura olivina* sobre olivo

El número medio de *E. olivina* recogido por las trampas puestas en parcelas de olivos fue constante y bajo a lo largo del muestreo en tres de las cuatro parcelas muestreadas (**Figura 13**). En la parcela de Pla de l'Estapar, donde las poblaciones fueron mayores, la dinámica fue diferente y se observaron dos máximos poblacionales, uno a finales de junio y otro a finales de julio. Entre la tercera semana de agosto y la primera de septiembre se observó para casi todas las parcelas una disminución del número medio de psílidos capturados.

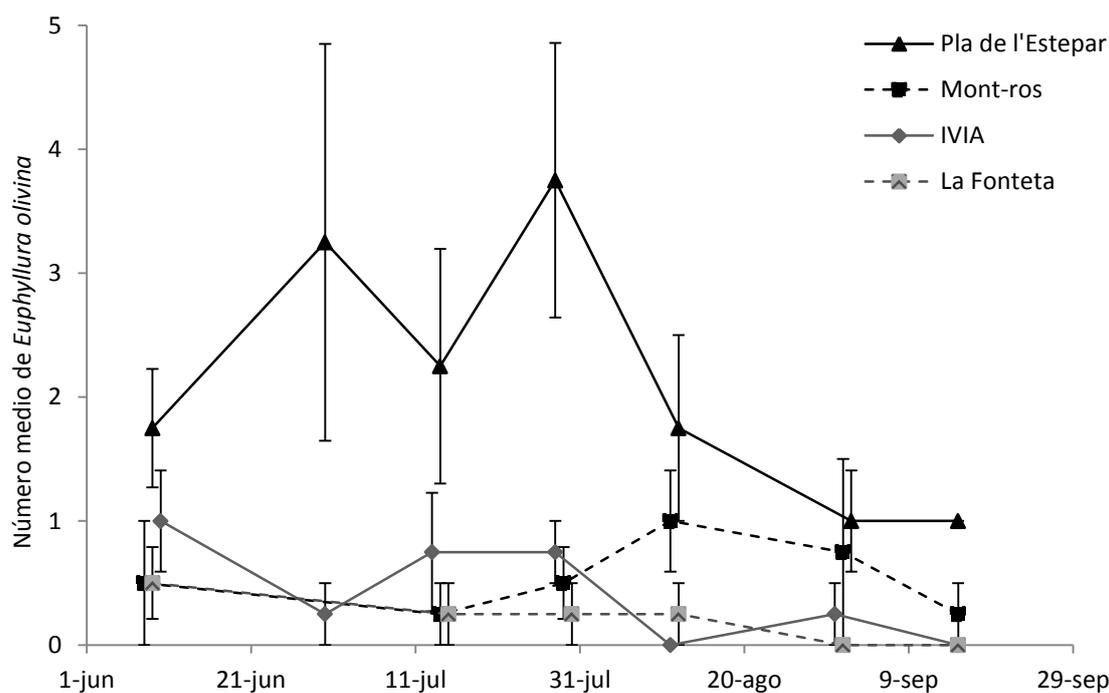


Figura 13. Evolución estacional de *Euphyllura olivina* las sobre cuatro parcelas de olivos localizadas en los territorios de Moncada, PLA, RIC, Mont-ros a lo largo de 2016. Cada punto representa la media (\pm EE) de individuos adultos capturados por trampa amarilla.

5.4 Principales parasitoides

5.4.1 *Psyllaephagus bliteus*

En las ocho muestras recogidas de los brotes de eucalipto infestados por *G. brimblecombei* se recuperaron e identificaron 80 individuos del parasitoide *Psyllaephagus bliteus* Riek (Hymenoptera: Encyrtidae) (**Tabla 3**).

Todas las muestras se recogieron en el Parque de Nazaret entre el 20 de mayo de 2016 y el 1 de septiembre de 2016. Las poblaciones de *P. bliteus* empezaron a aumentar en julio y el máximo poblacional, medido como el porcentaje de parasitismo, se produjo a finales de agosto (**Figura 14**). Este máximo coincidió con la disminución de las poblaciones de su hospedante *G. brimblecombei*.

Tabla 3. Número total de parasitoides y psílicos (adultos y ninfas) contabilizados en muestras de eucalipto y laurel recogidas en diferentes localizaciones a lo largo de 2016.

Psílido	Localización	Fecha muestra	Nº de ninfas psílicos	Nº de adultos psílicos	Nº de parasitoides
<i>Glycaspis brimblecombei</i>	Parque de Nazaret	13/05/2016	24	0	0
		27/05/2016	57	7	2
		10/06/2016	77	17	3
		23/06/2016	61	19	2
		07/07/2016	56	31	24
		04/08/2016	60	6	9
		18/08/2016	14	8	16
		16/09/2016	69	25	24
Total			418	113	80
<i>Trioza alacris</i>	Gran Vía Marqués del Turia	20/05/2016	13	7	0
		03/06/2016	33	18	0
		20/06/2016	65	8	2
		04/07/2016	28	6	1
		18/07/2016	12	2	4
		15/08/2016	24	7	13
Total			175	48	20
<i>Trioza alacris</i>	Parque de Benicalap	23/05/2016	10	6	0
		06/06/2016	13	5	0
		21/06/2016	94	8	4
		05/07/2016	16	5	3
		19/07/2016	9	0	4
Total			142	24	11
<i>Trioza alacris</i>	Universidad Politécnica de Valencia	10/06/2016	83	32	0
		23/06/2016	27	6	1
		20/07/2016	6	0	2
Suma	Total		110	38	3

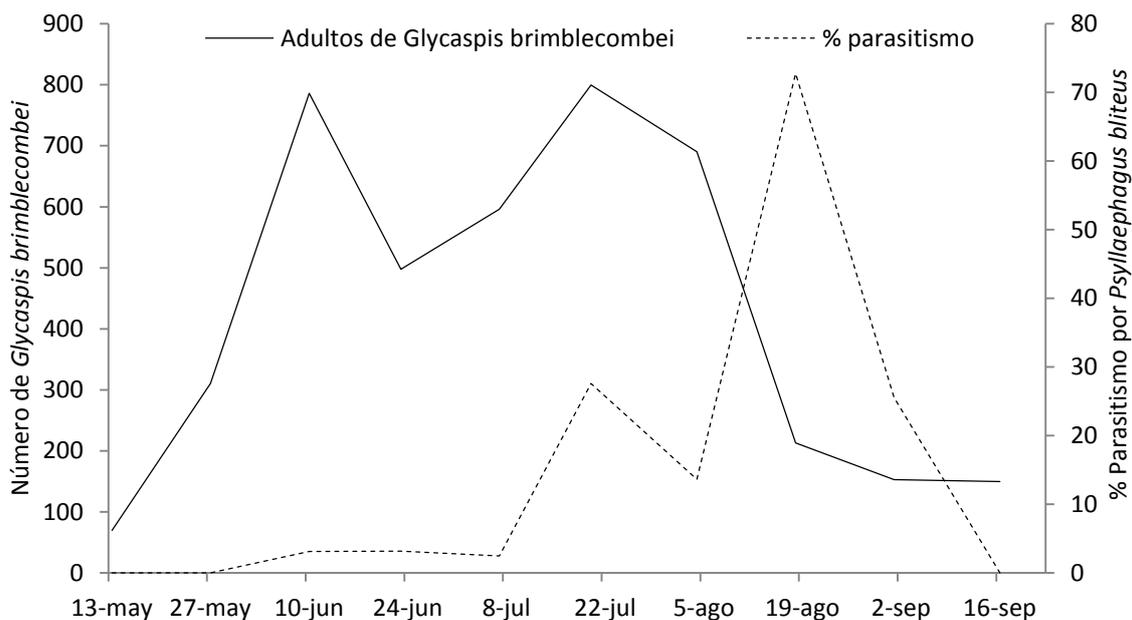


Figura 14. Evolución estacional del psílido *Glycaspis brimblecombei* (medida como el número total de adultos capturados en trampas amarillas) y su parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (medida como porcentaje de parasitismo) en el jardín del parque de Nazaret de la ciudad de Valencia entre mayo y septiembre de 2016.

5.4.2 *Psyllaephagus spp.*

En las 13 muestras recogidas de brotes de laurel infestados por *T. alacris* se recuperaron e identificaron 32 individuos un parasitoide del género *Psyllaephagus* (Hymenoptera: Encyrtidae) (**Tabla 3**). Se recogieron muestras de tres jardines diferentes.

En las muestras recogidas en el Parque de Benicalap entre el 23 mayo de 2016 y el 19 de julio de 2016 se identificaron un total de 11 individuos. Las poblaciones del parasitoide aumentaron a partir de junio y el máximo poblacional, medido a partir del porcentaje de parasitismo, se produjo a finales de julio tras el máximo de su huésped *T. alacris* (**Figura 15**). Las poblaciones del psílido descendieron tanto a mediados de agosto que no se observó material infestado que poder recolectar para su estudio.

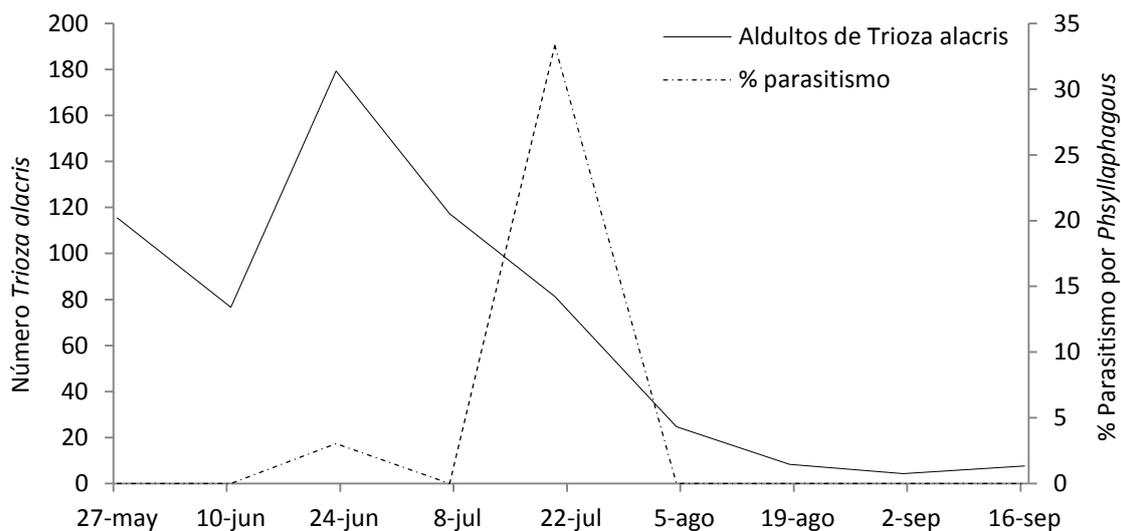


Figura 15. Evolución estacional del psílido *Trioza alacris* (medida como el número total de adultos capturados en trampas amarillas) y su parasitoide *Psyllaephagus* spp. (medida como porcentaje de parasitismo) en las zonas verdes del Parque de Benicalap de la ciudad de Valencia entre junio y agosto de 2016.

En el material vegetal recolectado en el paseo de Marqués del Turia entre el 20 de mayo de 2016 y el 1 de agosto de 2016 se identificaron un total de 20 individuos del parasitoide *Psyllaephagus* sp (**Tabla 3**). La actividad del parasitoide comenzó en junio y su máximo poblacional tuvo lugar a principios de agosto después del de su huésped *T. alacris* (**Figura 16**).

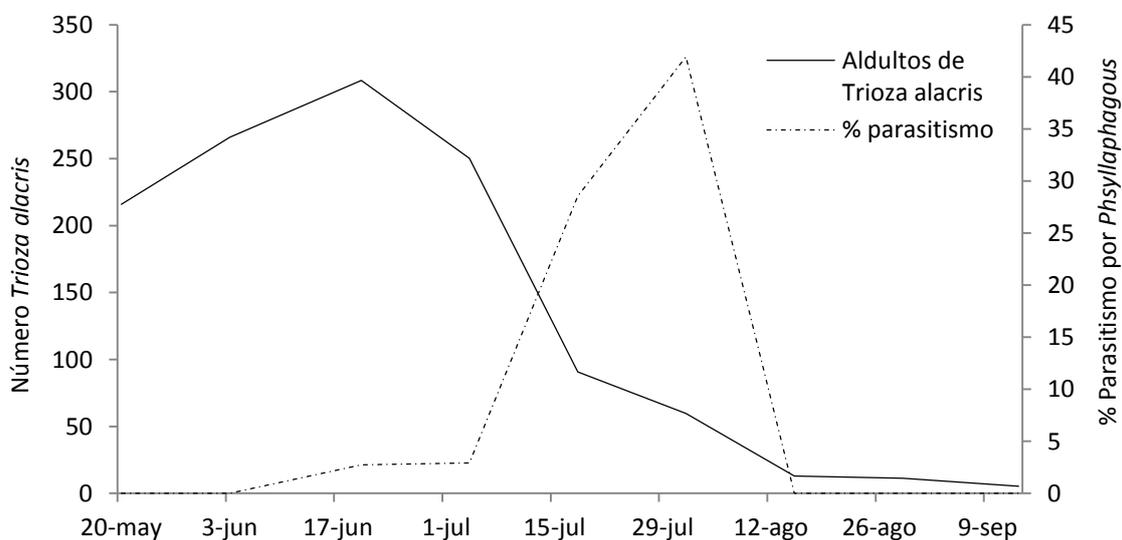


Figura 16. Evolución estacional del psílido *Trioza alacris* (medida como el número total de adultos capturados en trampas amarillas) y su parasitoide *Psyllaephagus* spp. (medida como porcentaje de parasitismo) en las zonas verdes del paseo de Marqués del Turia de la ciudad de Valencia entre junio y agosto de 2016.

En las muestras recogidas en las zonas verdes de la Universidad Politécnica de Valencia entre el 10 de junio de 2016 y el 20 de julio de 2016 se identificaron un total de 3 individuos del parasitoide *Psyllaephagus spp* (**tabla 3**). Las poblaciones del parasitoide aumentaron a partir de junio y el máximo poblacional se produjo a finales de julio tras el máximo de su huésped *T. alacris* (**Figura 17**).

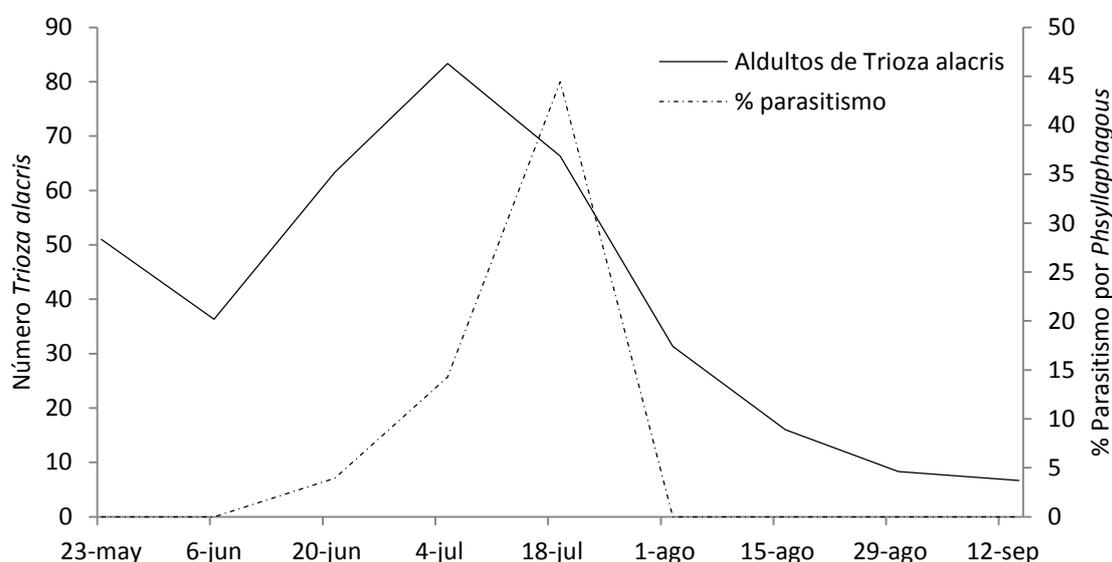


Figura 17. Evolución estacional del psílido *Trioza alacris* (medida como el número total de adultos capturados en trampas amarillas) y su parasitoide *Psyllaephagus spp.* (medida como porcentaje de parasitismo) en las zonas verdes de la Universidad Politécnica de la ciudad de Valencia entre junio y agosto de 2016.

6 DISCUSION

Los psílidos del eucalipto *Glycaspis brimblecombei* y *B.occidentalis* fueron los más abundantes de este estudio siendo además muy abundantes en tres de los cuatro jardines muestreados. La presencia de *G. brimblecombei* sobre eucaliptos de la Comunidad Valenciana se citó por primera vez en 2009 (Prieto-Lillo *et al.*, 2009). Éste psílido tiene una distribución muy cosmopolita encontrándose en Australia, de donde es originario, en territorios del norte de África, en países de la cuenca mediterránea y tanto en América del Norte como América del Sur (Reguia y Peris-Felipo, 2013). Posteriormente, estos mismos autores describieron su dinámica poblacional en la cuenca mediterránea y observaron un máximo poblacional en el mes de junio pero los autores no indican en su trabajo si se tratan de ninfas o adultos. En el presente trabajo el máximo de adultos se produjo en el mes de julio en tres de los cuatro jardines como ocurre también en un reciente trabajo presentado por Deidda *et al.* (2016). En los jardines del parque de Nazaret en Valencia, dónde *G. brimblecombei* fue más abundante, el psílido presentó dos posibles máximos poblacionales uno a principios de junio y el otro a finales de julio o bien un máximo que se alargó desde principios de junio hasta finales de julio.

Por otra parte, *B. occidentalis* no se había citado en la Comunidad Valenciana pero si en la Península Ibérica, concretamente en los territorios de Huelva (España) y Algarve (Portugal) en 2011 (Pérez-Otero *et al.*, 2011). Este psílido no fue tan abundante como *G. brimblecombei* pero parece asentado ya en la provincia de Valencia puesto que se capturó en los cuatro jardines muestreados. *Blastopsylla occidentalis* también tiene su origen en Australia y distribución cosmopolita puesto que se ha citado en Argentina, Brasil, Camerún, Chile, Hong Kong, Kenia, México, Nueva Zelanda, Paraguay, Sudáfrica y EE.UU. Al contrario que *G. brimblecombei*, *B. occidentalis* fue abundante al final del verano, coincidiendo con la disminución de las poblaciones del primero. *Blastopsylla occidentalis* también aumenta sus poblaciones a finales del verano principios de otoño en el hemisferio sur (Tamesse *et al.*, 2010; Soufo y Tamesse, 2014). Por lo tanto, parece que las poblaciones de estas dos especies de psílicos no llegan a solaparse en el tiempo si bien podrían estar compartiendo los mismos huéspedes, ya que se capturaron en las mismas trampas.

La disminución de las poblaciones de *G. brimblecombei* a finales de verano podría estar relacionada en parte por la acción del parasitoide *P. bliteus*. Este parasitoide se recuperó sólo a finales de verano y alcanzó niveles de parasitismo muy altos. En un trabajo donde se estudió en detalle el control biológico de *G. brimblecombei* en eucaliptos de California, se consideró que *P. bliteus* es el principal agente de control biológico del psílido, alcanzando niveles de parasitismo superiores al 50% todos los años (Sime *et al.*, 2004). Este parasitoide es originario del sur Australia y es específico de *G. brimblecombei*. En España, pese a que no se ha podido encontrar ninguna cita que atestigüe su introducción, su presencia se había detectado anteriormente (Pérez-Otero *et al.*, 2011). El parasitoide actúa introduciendo los huevos en el abdomen de los estadios inmaduros y aunque parece preferir los estadios tercer y cuarto se ha demostrado que es capaz de parasitar cualquiera de ellos (Sime *et al.*, 2004). El desarrollo del parasitoide está estrechamente relacionado con las temperaturas, pudiendo variar de 16 a 41 días (Plascencia *et al.*, 2005)

Las poblaciones de *T. alacris* sobre laurel fueron también muy numerosas, representando casi un 23% del total de todas las especies monitoreadas. Este psílido es muy común en los laureles mediterráneos donde es fácil observar el enrollamiento y engrosamiento del borde de las hojas originando una agalla, dentro de la cual viven y se alimentan las ninfas. Con el tiempo la agalla se vuelve de color rojizo y finalmente se necrosa, provocando una depreciación importante de la planta (Essig, 1917). Es considerada una plaga de jardines contra la cual es necesario realizar tratamientos con insecticidas bajo determinadas circunstancias que favorecen a la plaga, principalmente en viveros (De Alfonso *et al.*, 2011).

Trioza alacris mostró una dinámica uniforme en todas las parcelas muestreadas excepto en la parcela de Bétera. En las tres parcelas se produjo un máximo poblacional entre primavera y principios del verano y posteriormente sus poblaciones se mantuvieron bajas pero constantes el resto del año. En cambio en Bétera se produjo un segundo máximo en septiembre. Esta segunda dinámica se parece más a la presentada por De Alfonso *et al.* (2001), quienes observaron dos máximos poblacionales en un estudio realizado también en la provincia de Valencia

A partir de las muestras de material vegetal se identificó un parasitoide del género *Psyllaephagus* con un porcentaje máximo de parasitismo del 40%. Cabe destacar que este género es cosmopolita con más de 200 especies descritas y quizás con más de 1.000 especies en total (Noyes y Hanson, 1996), algunas de las cuales como la citada anteriormente se utilizan con éxito en el control de psílidos (Sime *et al.*, 2004). Podría tratarse del parasitoide *Psyllaephagus femoralis* (Borelli), que fue citado por García (1925) como parasitoide *T. alacris*. De Alfonso *et al.* (2014) también encontraron un parasitoide de *T. alacris* con potencial como agente de control biológico. En el presente trabajo, este parasitoide fue abundante en las tres parcelas donde disminuyeron las poblaciones de *T. alacris* mientras que no apareció en la localización de Moncada (IVIA), donde se encontró un segundo pico poblacional. Por lo tanto, parece que esta especie de *Psyllaephagus* es capaz de controlar las poblaciones de *T. alacris* en laurel.

Bactericera tremblayi, al contrario de lo esperado, no fue abundante en ninguna de las parcelas de cebolla muestreada si lo comparamos con los psílidos anteriores. La importancia agronómica de *B. tremblayi*, al igual que *Bactericera cockerelli* en tomate, reside en que son vectores de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* que ha generado pérdidas millonarias en las industrias relacionadas con los cultivos de la familia Solanáceas (principalmente en tomate y patata - *B. cockerelli*) y cultivos de Apiáceas (principalmente zanahoria y apio - *B. tremblayi*) ya que deprecian la parte comercial de los cultivos al generar necrosis diferentes moteados. Posee cinco haplotipos ordenados alfabéticamente y repartidos mundialmente de la siguiente manera: haplotipo A: América del Central, América del Norte y Nueva Zelanda. Haplotipo B: Estados Unidos de América y México. Haplotipo C: Finlandia, Noruega y Suecia. Haplotipo D: España (Península Ibérica e Islas Canarias), Marruecos. Haplotipo E: España (Península Ibérica), Francia y Marruecos (Nelson *et al.*, 2011; Teresani *et al.*, 2014; Tahzima *et al.*, 2014). El muestreo de *B. tremblayi* se realizó sobre cebolla y su máximo poblacional se produjo durante el segundo tercio del mes de junio. La baja abundancia de este psílido comparada con otros puede ser debida a que este psílido parece ser más abundante en el cultivo de la zanahoria. En nuestro trabajo no pudimos encontrar parcelas de este cultivo en los que no se realizaran tratamientos con insecticidas por lo que finalmente nos decantamos por el muestreo de parcelas de cebollas. Obviamente, la dinámica de *B. tremblayi* viene marcada por el propio cultivo, las fechas de plantación así como los cultivos colindantes. Cabe destacar que Teresani *et al.* (2014)

también observaron que éste psílido fue más activo durante el verano, aunque los muestreos se realizaron sobre zanahoria.

Euphyllura olivina se capturó en todas las parcelas de olivos muestreadas pero sólo una de las cuatro mostró una actividad alta. Este psílido es muy común en todas las zonas oleícolas del mediterráneo donde es considerada una plaga secundaria, probablemente porque al contrario que los anteriores psílicos no transmite ninguna bacteria dañina para los olivos (De Andrés Cantero, 1975). Sin embargo si las poblaciones son muy altas, el desarrollo de los brotes puede verse ralentizado y, por otra parte, si *E. olivina* se alimenta de las inflorescencias pueden generar abortos florales. Los daños indirectos son debidos a la excreción de melaza sobre la que pueden desarrollarse hongos como la negrilla, reduciendo la fotosíntesis y depreciando el fruto al quedar manchado. Pereira *et al.* (2001) describieron la dinámica y la estructura poblacional de *E. olivina* en la Península Ibérica. Este psílido ponen los huevos a finales de marzo y abril coincidiendo con el inicio de la floración. Las ninfas comienzan a observarse en abril y están presentes hasta mayo. Suelen infestar hasta un 5% de los pomos florales y muestran preferencia por la cara sur. En el este de la cuenca Mediterránea también se observa un máximo de adultos a finales de mayo principios de junio (Hamdana y Alkamb 2013). En nuestras parcelas este máximo duró hasta julio y en una de las parcelas se volvió a detectar un segundo máximo en agosto. En la bibliografía de este psílido se cita al parasitoide *Psyllaephagus euphyllurae* Massi (Hymenoptera: Encyrtidae) que es específico de *E. olivina* (Chermiti *et al.*, 1986) y que se encuentra también en España donde fue citado ya por Mercet (1925). Debido a las bajas poblaciones registradas en la parcelas muestreadas no se pudo recolectar material vegetal para estudiar sus enemigos naturales en nuestros olivos. En Jaén además de este parasitoide también se encontró hiperparasitoides del género *Pachyneuron* (Hymenoptera: Pteromalidae).

El psílido *T. curvatinervis*, anteriormente citado como *Bactrocera curvatinensis*, fue abundante en todos los jardines muestreados. Se observaron dos tipos de evolución estacional. En los jardines del río Turia y los encontrados en la Universidad Politécnica de Valencia se observaron dos máximos de vuelo mientras que en el parque de Nazaret y en la rivera de Quart de Poblet no se detectó ningún máximo claro pese a que se capturaron adultos de forma constante. La falta de bibliografía respecto a este psílido no nos ha permitido discutir cuál de estas dos dinámicas es la más común de *T. curvatinervis* en nuestros sauces.

7 CONCLUSIONES

En el presente trabajo se han determinado las especies de psílicos presentes en nuestros cítricos y en otros ecosistemas que coexisten en la región citrícola de la Comunidad Valenciana. En

primer lugar cabe destacar que en ninguna de las cuatro parcelas de cítricos muestreadas se ha detectado ni *T. erytrae* ni *D. citri*, vectores de HLB. Estos resultados refuerzan los resultados presentados recientemente por el Plan de Vigilancia fitosanitaria cítrica de la Generalitat Valenciana. Todos los psílidos identificados en cítricos provenían posiblemente de laureles o eucaliptos cercanos por ser las especies encontradas específicas de estas plantas. Por lo tanto, tampoco parece que las cubiertas vegetales de los cítricos alberguen otras especies de psílidos que pudieran ser hospedantes alternativos para *Tamaraxia dryi*, parasitoide de *T. erytrae* que se quiere introducir en el programa de control biológico contra esta nueva plaga.

Por otra parte, se ha caracterizado la fenología y enemigos naturales de los principales psílidos que existen en nuestros agroecosistemas. Destacan por su abundancia los psílidos del eucalipto, *G. brimblecombei* y *B. occidentalis* así como los del laurel y del sauce *T. alacris* y *T. curvatinervis*. Debido a su abundancia y cercanía filogenética a *T. erytrae* y *D. citri*, estos psílidos deberían considerarse en cualquier trabajo para evaluar los riesgos ambientales asociados a la introducción del parasitoide *T. dryi* para confirmar que la introducción de este no tiene un impacto negativo, tal y como recoge la normativa actual (BOE núm. 303, martes 16 septiembre de 2014).

Por último, los parasitoides del género *Psyllaephagus* fueron los más abundantes en el presente trabajo, siendo agentes de control del psílidos *G. brimblecombei* y *T. alacris*. Por lo general, se considera que estos parasitoides son específicos y por lo tanto no cabe esperar que parasiten a *T. erytrae* en nuestro país. La falta de parasitoides generalistas de psílidos en nuestro país sería otra razón para favorecer la introducción de *T. dryi*. Cabe destacar también que no se ha encontrado ningún hiperparasitoide sobre estos parasitoides primarios. Por lo general los hiperparasitoides son más generalistas y se pueden pasar de una especie de psílido a otro, lo que dificultaría la aclimatación y actuación de *T. dryi* como agente de control biológico de *T. erytrae*.

8 REFERENCIAS

ARAMBOURG, Y. & CHERMITI, B., 1986. Psyllidae. En: Y. Arambourg (ed.) *Traité d'Entomologie Oléicole*. Conseil Oléicole International. Madrid, pp.163-172.

BOVÉ, J. M., 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of plant pathology*, 7-37.

- CHERMITI, B., HAWLITZKY, N., BOULAY, C., & ONILLON, J. C., 1986. Quelques caractéristiques du développement de l'endoparasite *Psyllaephagus euphyllurae* [Hymenoptere, Encyrtidae] et exploitation de son hôte *Euphyllura olivina* [Homoptere, Psyllidae]. *Entomophaga*, 31(4), 351-361.
- DARDERES, A.C.G., 2009. DISTRIBUCION DEL HUANGLONGBING (HLB)-GREENING EN EL MUNDO. Direccion de Vigilancia y Monitoreo. www.senasa.gov.ar
- DE ANDRÉS CANTERO, F., 1975. Catálogo de parásitos del olivo. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 1(2), 1-189.
- GARCÍA MERCET, R., 1925. Adiciones a la fauna española de Encírtidos (Hym. Chalc.) 5ª nota. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, 312-327. "
- GRAFTON-CARDWELL, E.E., STELINSKI, L.L. y STANSLY, P.A., 2013. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the HLB pathogens. *Annual Review of Entomology*, 58, 413-432
- HEDO, E. B. 2015. Real Decreto 951/2014, de 14 de noviembre, por el que se regula la comercialización de determinados medios de defensa fitosanitaria.(BOE núm. 303, de 16 de diciembre de 2014). *Actualidad Jurídica Ambiental*, (42), 32-32.
- HODGES, A.W. y SPREEN, T.H., 2012. Economic impacts of citrus greening (HLB) in Florida, 2006/07 – 2010/11. EDIS AQ21 FE903. pp. 1–6
- KISTNER, E. Y HOODLE, M., 2015. Life of ACP. *Citrograph* 6: 52-58.
- LOPES, S.A., FRARE, G.F., BERTOLINI, E., CAMBRA, M., FERNANDES, N.G., AYRES, A.J., MARIN, D.R. & BOVÉ, J.M. 2009. Liberibacters associated with citrus Huanglonbing in Brazil: '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' is heat tolerant, '*Ca. L. americanus* is heat sensitive. *Plant Dis.* 93: 257- 262
- MAGRAMA, 2015. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. Resultados nacionales y autonómicos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaría General Técnica. Subdirección General de Estadística. <http://publicacionesoficiales.boe.es/>
- MCFARLAND, C. D. y HOY, M.A. 2001. Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under different relative humidities and temperature regimes. *Florida Entomologist*, 227-233.
- MONZO, C., QURESHI, J.A., STANSLY, P.A. 2014. Insecticide sprays, natural enemy assemblages and predation on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). *Bulletin of Entomological Research*, 104, 576-85.
- NOYES, J. S. Y HANSON, P., 1996. Encyrtidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) of Costa Rica: the genera and species associated with jumping plant-lice (Homoptera: Psylloidea). *Bulletin-natural history museum entomology series* 65, 105-164
- PAULANO, F.G. y HERNÁNDEZ, A.F., 2009. Control de plagas y enfermedades del olivo. *Agricultura: Revista agropecuaria*, (918), 362-366

- PEREIRA, J.A., LOUSÃO, C., BENTO, A., CABANAS, J. y TORRES, L., 2001. Contribuição para o conhecimento da bioecologia do algodão da oliveira, *Euphyllura olivina* Costa, na região de Trás-os-Montes (Nordeste de Portugal). Congreso de Entomologia Aplicada. Pamplona, Novembro de 2001. Libro de resúmenes: 60-61.
- PÉREZ HIDALGO, N., MIER DURANTE, M.P. & UMARAN, A., 2015. Orden Hemiptera: Subórdenes Cicadomorpha, Fulgoromorpha y Sternorrhyncha. *Revista IDE@ - SEA*, nº 54 (30-06-2015): 1-18.
- PLASCENCIA-GONZÁLEZ, A., CIBRIÁN-TOVAR, D., LLANDERAL-CÁZARES, C., LÓPEZ-PÉREZ, I. y ARRIOLA-PADILLA, V., 2005. Biología del parasitoide *Psyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae)
- PRIETO-LILLO, E., RUEDA, J., HERNÁNDEZ, R. Y ARLANDIS, J.S., 2009. Comunicación: primer registro del psílido rojo del eucalipto, *Glycaspis brimblecombei* (Homoptera: Psyllidae), en la Comunidad Valenciana. *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 35(2), 277-282.
- SANTAMALIA, E. R., CENJOR, R. L., XAMANI, P., Y BERTOMEU, S., 2014. Comparación del ciclo biológico de diferentes especies de psilas presentes en árboles ornamentales de la ciudad de València. In XVI Congreso Nacional de Arboricultura.
- SANTIVANEZ, T., MORA, G., DÍAZ, G., LÓPEZ, J.I., VERNAL, P., 2013. Marco Estratégico para la Gestión Regional del Huanglongbing en América Latina y el Caribe . www.fao.org/3/a-i3319s.pdf
- SIME, K.R., DAANE, K.M., DAHLSTEN, D.L., ANDREWS, J.W. y ROWNEY, D.L., 2004. Constraints on the effectiveness of *Phyllaephagus bliteus* (Hymenoptera: Encyrtidae), a biological control agent for red-gum lerp psyllid (Hemiptera: Psylloidea) in California. In Proceedings of California Conference on Biological Control (Vol. 4).
- SOUFO, L. y TAMESSE, J. L., 2015. Population Dynamic of *Blastopsylla occidentalis* Taylor (Hemiptera: Psyllidae), a Psyllid Pest of Eucalypts. *Neotropical entomology*, 44(5), 504-512.
- TEIXEIRA, D.C., DANET, J.L., EVEILLARD, S., MARTINS, E. C., CINTRA DE JESUS JUNIOR, W., YAMAMOTO, P.T., LOPES, S.A., BASSANEZI, R.B., AYRES, A. J., SAILLARD, C. & BOVÉ, J.M., 2005b. Citrus huanglongbing in Sao Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus' *Liberibacter* species associated with the disease. *Molecular and Cellular Probes* 19: 173-179.
- TERESANI, G.R., BERTOLINI, E., ALFARO-FERNÁNDEZ, A., MARTÍNEZ, C., TANAKA, F.A.O., KITAJIMA, E.W. y CAMBRA, M., 2014. Association of 'Candidatus' *Liberibacter solanacearum* with a vegetative disorder of celery in Spain and development of a real-time PCR method for its detection. *Phytopathology*, 104(8), 804-811
- TEXEIRA, D.D.C., AYRES, J., KITAJIMA, E. W., DANET, L., JAGOUÉIX-EVEILLARD, S., SAILLARD, C. y BOVÉ, J. M., 2005a. First report of a huanglongbing-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil and association of a new *Liberibacter* species, "Candidatus *Liberibacter americanus*", with the disease. *Plant Disease*, 89(1), 107-107.

TIWARI, S., MANN, R.S., ROGERS, M.E., y STELINSKI, L.L., 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest management science*, 67(10), 1258-1268.

URBANEJA, A., CATALÁN, J., TENA, A., & JACAS, J. A. 2016. Gestión integrada de plagas de cítricos. <http://gipcitricos.ivia.es>

VAN DEN BERG, M. A., & GREENLAND, J., 2000. *Tamarixia dryi*, parasitoid of the citrus psylla, *Trioza erytrae*: a review. *African Plant Protection*, 6(1), 25-28.