

Efecto de las variaciones en la radiación fotosintética activa (“PAR”) en el contenido nutricional del mirto, *Murraya exotica* (Rutaceae), y su habilidad de sustentar a *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae), vector de la enfermedad de enverdecimiento de cítricos

Por:

Kelvin J. Ruiz Medina

Tesis sometida en cumplimiento
de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

En
Biología

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2015

Aprobado por:

Carlos Santos Flores, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Mónica Alfaro, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

David Jenkins, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Jaime Acosta, Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Alejandro E. Segarra Carmona, Ph.D.
Representante, Estudios Graduados

Fecha

Nanette Diffoot Carlo, Ph.D.
Directora, Departamento de Biología

Fecha

Abstract

The Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), is an important pest of citrus because it transmits the bacteria (*Candidatus Liberibacter* spp.) that has been implicated in causing Huanglongbing (HLB), also known as citrus greening disease. This is the most devastating disease of citrus world-wide. Solutions to this disease are desperately needed to maintain the viability of commercial citrus. Proof is accumulating that some environments are not suitable for psyllids. There is anecdotal evidence that citrus trees in shady areas have lower psyllid populations and a lower incidence of the disease. The following study focused on whether the survival of psyllids differed if their host was grown in the sun or in the shade. To see this effect, we exposed the host *Murraya exotica* to different light and shade regimens and used leaf bioassay to see the survival of the psyllids. The evidence is no longer anecdotal; our results showed that the Asian psyllids survive a longer period of time in leaves exposed to a higher photosynthetic active radiation (PAR). The increase of certain nutrients during the time of exposition to active radiation played an important role in the survival of the psyllids.

Keywords: *Diaphorina citri*, *Murraya exotica*, Leaf bioassays, photosynthetically active radiation (PAR)

Resumen

El psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemimptera: Liviidae) es una plaga importante de los cítricos ya que es portador de *Candidatus Liberibacter* spp., que alegadamente causan la enfermedad de Huanglongbing (HLB), también conocida como la enfermedad de enverdecimiento de cítricos. Esta enfermedad es la más devastadora para los cítricos a nivel mundial. Urgentemente, se necesitan soluciones a esta enfermedad para asegurar el sustento comercial de los cítricos. Se ha encontrado recientemente evidencia anecdótica de que los cítricos en ambientes con abundancia de sombra tienen poblaciones más bajas de psílicos y menor incidencia de enfermedades. Este estudio se concentra en ver cómo se afecta la supervivencia del psílido asiático en hojas de *Murraya exotica* expuestas a diferentes tratamientos de luz y sombra. Para ver el efecto de los tratamientos, para cada uno se utilizaron una serie de bioensayos. Los resultados mostraron que el psílido asiático tuvo una mayor supervivencia en las hojas expuestas a una mayor radiación fotosintética activa. El incremento de ciertos nutrientes durante el tiempo de exposición a la radiación fotosintética activa juega un papel muy importante en la supervivencia de los psílicos.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, *Murraya exotica*, Bioensayos, Luz fotosintética activa

Dedicatoria

A mis padres, Carlos J. Ruiz Mendoza y Lourdes I. Medina Rivera, y a mi hermano Alexis

J. Ruiz Medina por el apoyo incondicional que me brindaron.

Agradecimientos

Primero que nada quiero agradecer a DIOS por permitir que tuviera esta oportunidad de realizar mi tesis.

Al Dr. David Jenkins, por creer en mí y darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio. Además, por todos sus consejos, las horas que invirtió conmigo analizando, corrigiendo afiches y mis manuscritos de tesis y, finalmente, por todo lo que me ha enseñado durante este transcurso; gracias.

A Delvis Pérez Almodóvar, por abrirme las puertas de su laboratorio y ayudarme con el análisis nutrición.

Al Dr. Jaime Acosta, por aceptarme como su estudiante graduado; que a pesar de todo siempre estuvo ahí para ayudarme y brindarme consejos. A los miembros del mi comité, Dr. Carlos Santos y la Dra. Mónica Alfaro, por sus recomendaciones y contribuciones a mi proyecto de tesis.

A mis amigos del laboratorio en TARS, Robert McPhail y Natanael Valentín, por ayudarme con las preparaciones y brindarme consejos.

A el USDA-TARS (Tropical Agriculture Research Station) en Mayagüez, Puerto Rico, por su permitirme trabajar en sus facilidades.

Tabla de contenido

	Página
Abstract.....	ii
Resumen.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Tabla de Contenido.....	vi
Lista de Tablas.....	vii
Lista de Figuras	viii
Lista de Apéndices	ix
1 Introducción.....	1
2 Revisión de literatura.....	3
3 Materiales y Métodos.....	8
4 Resultados	12
5 Discusión.....	18
6 Conclusiones.....	22
7 Recomendaciones.....	23
Literatura Citada	24
Apéndice.....	30

Lista de Tablas

Página

Tabla 1: Temperatura, humedad relativa y radiación fotosintética en promedio de los tratamientos	14
Tabla 2: Análisis nutricional de las hojas de <i>Murraya exotica</i> bajo diferentes niveles de intensidad de luz al comienzo del experimento, luego de 30 días y 60 días.....	16

Lista de Figuras

Página

Figura 1:A) <i>Murraya exotica</i> bajo caseta con malla de sombra. B) <i>Murraya exotica</i> bajo los cinco tratamientos.....	9
Figura 2: Psílido asiático adulto (<i>Diaphorina citri</i>) y ninfas de <i>Diaphorina citri</i> alimentándose	9
Figura 3: A) Bioensayo de hoja individual. B) Bioensayos de hoja en gradilla para tubos.....	10
Figura 4: Supervivencia de <i>D. citri</i> en las hojas <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa por 30 días	15
Figura 5: Supervivencia de <i>D. citri</i> en las hojas <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa por 60 días.....	15
Figura 6: Cantidad de psílicos salvajes adultos en los árboles de <i>M exotica</i> por tratamientos.....	17

Lista de Apéndices

	Página
Apéndice A: Psílido asiático (hembra adulta).....	30
Apéndice B: Psílido asiático (macho adulto).....	31
Apéndice C: Estados ninfales del psílido asiático (<i>Diaphorina citri</i>).....	31
Apéndice D: Concentración de nitrógeno en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	32
Apéndice E: Concentración de calcio en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	32
Apéndice F: Concentración de magnesio en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	33
Apéndice G: Concentración de manganeso en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento	33
Apéndice H: Concentración de cinc en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	34
Apéndice I: Concentración de boro en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	34

Apéndice J: Concentración de molibdeno en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	35
Apéndice K: Concentración de aluminio en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento	35
Apéndice M: Concentración de azufre en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento	36
Apéndice N: Concentración de fósforo en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	36
Apéndice O: Concentración de potasio en las hojas de <i>M.</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	37
Apéndice P: Concentración de hierro en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento.....	37
Apéndice Q: Concentración de aluminio en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 30 días de exposición a los tratamientos.....	38
Apéndice R: Concentración de hierro en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 30 días de exposición a los tratamientos.....	38

Apéndice S: Concentración de azufre en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 30 días de exposición a los tratamientos.....	39
Apéndice T: Concentración de nitrógeno en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 30 días de exposición a los tratamientos.....	39
Apéndice U: Concentración de nitrógeno en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 60 días de exposición a los tratamientos.....	40
Apéndice V: Concentración de potasio en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 60 días de exposición a los tratamientos.....	40
Apéndice W: Concentración de hierro en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 60 días de exposición a los tratamientos.....	41
Apéndice X: Concentración de boro en las hojas de <i>M. exotica</i> expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR), luego de 60 días de exposición a los tratamientos.....	41

1. Introducción

El psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es una plaga importante de los cítricos. El mismo es un portador de unas bacterias del genero *Candidatus Liberibacter* spp., que se cree causa la enfermedad de Huanglongbing (HLB), también conocida como la enfermedad de enverdecimiento de cítricos. Esta enfermedad detrimental para los cítricos ya que ahora no se ha encontrado la forma de combatirlo (McClellan y Schwartz, 1970; Bove, 2006). Se necesitan con urgencia tratamientos contra esta enfermedad, métodos para evitarla y eliminar su vector y así evitar la pérdida de los cítricos a nivel comercial. En el estado de Florida en especial, donde este problema es severo y las estrategias convencionales como el uso de los insecticidas no han mostrado progreso (Hall et al., 2013). Ya, que con el aumento en el uso de plaguicidas, se ha observado resistencia en algunas poblaciones de *D. citri* (Tiwari et al., 2011).

Según Aubert y Hua (1990), el vuelo de los adultos y actividades de brinco en *Diaphorina citri* son evidentes en días soleados y calurosos. Esto también se observó en los resultados de Hall (2009), en donde la densidad absoluta de la captura de los adultos de *D. citri* fue reducida en respuestas a cambios en la exposición a la luz solar y variaciones en la temperatura. Además, hay evidencia anecdótica que los cítricos tienen menores poblaciones de psílicos e incidencia de enfermedades en ambientes con más sombra.

Hay muchos factores que pueden afectar la biología de los psílicos. Por ejemplo, mayores niveles de radiación ultravioleta (UVA), la temperatura y condiciones del hospedero, en donde se pueden encontrar muchas alternativas. En este trabajo se estudian cómo las variaciones en la luz solar afectaron el contenido nutricional de la planta hospedero *Murraya exotica* (Rutaceae) y la supervivencia *D. citri*. Con este trabajo

contribuye con una manera sencilla para controlar el crecimiento poblacional del psílido asiático y, a su vez, evitar la propagación de la enfermedad de enverdecimiento de los cítricos que está afectando a cultivos comerciales y plantas ornamentales alrededor del mundo.

2. Revisión de Literatura

El psílido asiático, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), fue descrito por primera vez en Taiwán en 1907, pero no es hasta el 1940 que se informó en América del Sur (Lima, 1942). Ésta especie siguió colonizando territorio esparciendo hacia América del Norte y el Caribe, siendo detectado en Florida por (Halbert et al. (1998) y en Guadalupe por Etienne et al. (1998). No es hasta el 2001 que este psílido es descubierto en Texas y Puerto Rico (French et al., 2001; Halbert y Nuñez, 2004). Interesantemente, las poblaciones de Puerto Rico y Guadalupe presentan un haplotipo único cuando son comparadas con las poblaciones en los Estados Unidos (Hall et al., 2013). Entre los hospederos que prefiere *D. citri* se encuentran miembros de la familia de las rutáceas, especialmente los cítricos como limones, naranjas y limas. También existen hospederos alternativos como los del género *Murraya* (Mirtos) (García, 2009).

El psílido asiático es un hemíptero pequeño con alas de color marrón y manchas blancas, perteneciente a la familia Liviidae. Este se reproduce y alimenta de los cítricos pertenecientes a la familia Rutaceae, como *Murraya exotica* L., la cual se siembra en grandes cantidades en Puerto Rico (Pluke et al., 2005). Un macho adulto en promedio puede vivir alrededor de 20-22 días y la hembra alrededor de 31 a 32 días a 24 C° (Nava et al., 2007). La mayor longevidad informada en un psílido adulto hasta el momento era de 177 días a 15 C° y 31 días a 30 C° (Liu y Tsai, 2000). Sin embargo, Richardson y Hall (2012) encontraron que las hembras vírgenes pueden vivir un máximo de 188 días, con un promedio de vida de 90 días a 27 C°. La hembra pone sus huevos en hojas nuevas; y puede

poner alrededor de 500-800 huevos, dependiendo de la temperatura y hospedero en que se encuentre (Husain y Nath, 1927; Lui y Tsai, 2000). Cuando los huevos eclosionan salen unas larvas conocidas como ninfas; éstas pasan por cinco estadios ninfales o mudas antes de llegar a la adultez, periodo que puede durar alrededor de 2 a 7 semanas dependiendo de la temperatura que estén expuestos (Lui y Tsai, 2000).

Esta especie de psílido es una plaga detrimental para los cítricos, ya que le causa un daño directo a las plantas, al alimentarse de ellas debido a que es portador de las bacterias del género *Candidatus Liberibacter*, agente sospechoso de causar la enfermedad de Huanglongbing de los cítricos (HLB), también conocida como la enfermedad de enverdecimiento de cítricos (McClellan y Schwartz, 1970). Hay evidencia que esta enfermedad surge en el siglo XVIII en la India, posiblemente porque el patógeno estaba presente en las plantas nativas y, al surgir nuevas plantaciones de cítricos, los psílicos se convirtieron en vectores de transmisión de la enfermedad. (Capoor, 1963). Zhao (1981) anota que a mediados del siglo XIX la enfermedad fue vista en China, probablemente debido al intercambio de productos a través del mar entre India y China (Beattie et al., 2005). Esta enfermedad ha seguido dispersándose hasta llegar al hemisferio occidental, como se reportó en el 2004 por primera vez en Brasil (Anon, 2004), un año después en Florida (Halbert, 2005), y existen documentos no publicados en donde se reporta que en el 2007 estaba en Puerto Rico. Esta enfermedad es una de la más peligrosas para los cítricos, porque baja su productividad, se producen frutos incomedibles, hojas pequeñas con deficiencia en nutrientes, las hojas tornan amarillentas y las plantas solo viven unos cuantos años (Bové, 2006). El psílido asiático puede adquirir la bacteria de varias maneras; alimentándose de un árbol infectado; por medio de transmisión venérea, donde el macho

puede transmitir la bacteria a la hembra durante el apareamiento (Mann et al. 2011) pero no por medio de transmisión transovárica, es decir, de madre a prole no ocurre (Pelz-Stelinki et al., 2010). Para que este psílido pueda transmitir la bacteria a los cítricos, ésta tiene que llegar a las glándulas salivales del psílido. Sin embargo, Ammar et al. (2011) han encontrado que las glándulas salivales de estos psílicos tienen una cantidad del patógeno. Las ninfas tienen la capacidad más alta adquirir y transmitir el patógeno ya que pueden adquirirlo en sus últimos estadios ninfales, de esta forma se transmite el patógeno tanto por ninfas como por adultos (Pelz-Stelinki et al., 2010). El comportamiento *D. citri* varía; si el insecto está infestado por la bacteria es atraído por árboles sanos y cuando no tienen la bacteria es atraído por árboles infectados, facilitando así el contagio (Mann et al., 2012).

Debido al problema que trae consigo *D. citri*, se están tomando medidas para controlar esta plaga y así el contagio de HLB en los cítricos; especialmente cuando ya se ha encontrado en América siendo así una seria amenaza para Puerto Rico. Se están utilizando insecticidas y la remoción de las plantas infectadas en los cultivos pero éstos no han sido tan efectivos y no han dado el resultado esperado, especialmente en las nuevas plantaciones de cítricos (Gottwald, 2007). Por esto, se están buscando otras alternativas para tratar el problema, una de ellas es estudiando los enemigos naturales de *D. citri* para así poder implementarlos como control biológico. Existe una buena variedad de depredadores y parásitos que atacan a este psílido alrededor del mundo. En Puerto Rico, Pluke et al., (2005) estudiaron a los escarabajos de la familia Coccinellidae que se alimentan de *D. citri*, midiendo la abundancia y la eficiencia depredadora y sugirieron que estos organismos podrían contribuir a su control. Otro estudio, realizado por Pluke et al. (2008), mostraron que el ectoparásito *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) contribuye con la

mortalidad de las ninfas de *D. citri* y lo sugirieron como control biológico en otras zonas citrícolas.

Otra medida para controlar la plaga es un diseño más adecuado para la siembra de cultivos determinado y, por lo tanto, se está acumulado evidencia de los ambientes que no son idóneos para los psílicos. Por ejemplo, en Puerto Rico éstos son raramente encontrados por encima de 600 m de elevación (Jenkins et al., 2015).

Los cítricos como la china, toronjas, mandarinas y cidra, entre otros, son productos importantes para la economía agrícola. La siembra de los cítricos se recomienda en lugares con suelos profundos y con un pH de 5.5 a 7.5. También se recomiendan lugares que reciban de 60 a 80 pulgadas de lluvia, con temperaturas alrededor de 90 F° y una humedad relativa fluctuando los 80 por ciento (Aponte et al., 1977). Puerto Rico es una de los países que se ha beneficiado de los cítricos, hay datos históricos que muestran que la industria local de los cítricos tuvo una sus mejores épocas del 1920 a 1930 (Aponte et al., 1977). Con el pasar de los años la producción ha bajado por varias razones. La más reciente es la enfermedad de Huanglongbing (HLB), que ha afectado las fincas de los pueblos de San Sebastián, Las Marías y Lares, las cuales han perdido hasta un 80 por ciento de su cosecha y árboles, según las observaciones de la Organización de Productores Cítricos de la Montaña Inc. en una carta al gobierno, en el 2013, pidiendo ayuda con este problema.

No solo las plantas agrícolas se han afectado; también las plantas ornamentales como *Murraya exotica*, comúnmente conocida como mirto. Este es un arbusto con una altura de 2 a 3 metros, su tallo puede alcanzar los 13 centímetros de ancho y presenta hojas compuestas. *Murraya exotica* es nativa de lugares como China, India, norte de Australia y Taiwán (Parrotta, 2001). No se limita solo a sus lugares nativos, está ha sido plantada en

muchos lugares del Caribe, incluyendo Puerto Rico. En la Isla crece desde el nivel del mar hasta 1300 metros de elevación y en áreas que reciben de 750mm a 1900mm de precipitación anual (Neal, 1965).

Murraya exotica es muy popular en los jardines por la capacidad de poder ser cortada en distintas formas como animales u objetos y de crecer bien en tiestos. Otro beneficio es en la salud ya que sus hojas son usadas para tratar diarreas y dolores de articulaciones y del cuerpo (Parrotta, 2001). El mirto no ha sido reportado como una maleza, pero esta se puede controlar o matar con herbicidas para malezas de hoja ancha (Negreros-Castillo y Hall, 1994) y es el hospedero preferido de *Diaphorina citri* (Pacific Island Ecosystems at Risk, 2002).

3. Materiales y Métodos

Preparación de tratamientos

Veinticinco árboles jóvenes de *Murraya exotica* L (Mirto), criados bajo las mismas condiciones de luz, riego y fertilizante, se colocaron en un espacio abierto en el USDA-TARS (“Tropical Agriculture Research Station”) en Mayagüez, Puerto Rico, el 1 de diciembre de 2014. Luego de 15 días se tomaron aleatoriamente cinco árboles de *M. exotica* para cada tratamiento. Antes de someter los árboles a los tratamientos se tomaron tres muestras del follaje (hojas) para ser sometidas a un análisis nutricional en el laboratorio de química de TARS.

Se construyeron cinco casetas con unas mallas de sombra de diferente tamaño de poro, que bloquean cierto porcentaje de luz solar para medir así la radiación fotosintética activa (PAR). Los tratamientos fueron: tratamiento 1 (PAR 1562, completamente expuesto al sol), tratamiento 2 (PAR 908), tratamiento 3 (PAR 756), tratamiento 4 (PAR 460) y tratamiento 5 (PAR 48) (Fig. 1). Se procedió a medir la radiación fotosintética activa (PAR) de cada tratamiento las 12:00 pm utilizando un Ceptómetro (Sunfleck PAR Ceptometer) que utiliza la unidad de medida $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Se midió la temperatura y humedad relativa durante el transcurso del experimento. Es importante mencionar que todos los árboles fueron colocados en el mismo ambiente quince días antes de comenzar el experimento, para que se aclimataran y estuvieran bajo las mismas condiciones.



Figura 1: A) *Murraya exotica* bajo caseta con malla de sombra. B) *Murraya exotica* bajo los cinco tratamientos.

Bioensayo de hojas

Para medir la supervivencia del psílido asiático (Fig. 2) en los diferentes tratamientos se llevó a cabo un bioensayo de hoja como el preparado por Ammar et al. (2013), con algunas modificaciones.



Figura 2: Psílido asiático adulto (*Diaphorina citri*) y ninfas de *Diaphorina citri* alimentándose.

Primero se colectaron dos hojas de cada uno de los cinco árboles en los tratamientos, con un total de 10 hojas por tratamiento. A estas hojas se le procedió a hacerles un pequeño corte diagonal en la parte terminal del peciolo, con una navaja, para agrandar el área de absorción de agua de la hoja. Inmediatamente luego del corte, se colocó

la hoja en un microtubo de centrifuga lleno de agua destilada sin tapa. Se utilizó parafina para envolver el tope del microtubo y minimizar la evaporación del agua. Luego, el microtubo fue introducido en un tubo de centrifuga de polipropileno de 50-ml (3 cm de ancho y 11.5 de largo). Finalmente se añadió un psílido adulto (adultos recién eclosionados procedentes de la colonia de USDA-TRAS establecida el 15 de agosto del 2014 en Mayagüez, P.R) y se taparon los tubos de centrifuga con una malla (Delnet Pollination bags, DelStar Technologies, Middleton, DE), sostenida con una banda elástica para permitir la ventilación en la jaula, y fueron etiquetados (Fig. 3A). Los bioensayos fueron colocados en una gradilla para tubos (Fig. 3B) y en una cámara ambiental (25.86 ± 0.83 (DE) °C) con 12 horas de luz por día. La supervivencia de los psílicos fue monitoreada diariamente hasta que todos fallecieron. Se realizaron dos series de bioensayos: el primero se hizo con hojas expuestas a sus respectivos tratamientos por 30 días y la segunda con las hojas expuestas por 60 días.

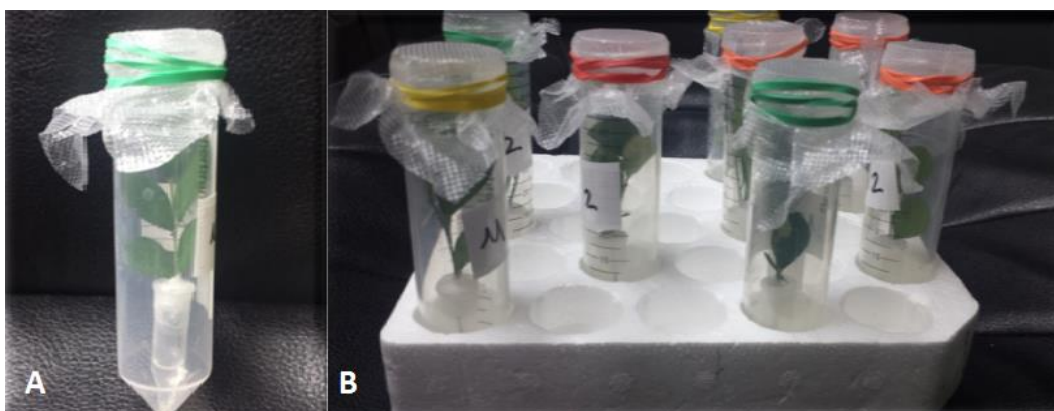


Figura 3: A) Bioensayo de hoja individual. B) Bioensayos de hoja en gradilla para tubos.

Abundancia de psílicos en los tratamientos

La abundancia de psílicos asiático salvajes en los arboles de *M. exotica* fue contabilizada en dos ocasiones: a los días 52 y 75 de exposición a los tratamientos.

Análisis nutricional de las hojas de *M. exotica*

Se llevaron a cabo tres análisis de nutrición de las hojas de *M. exotica* en el laboratorio de química en TARS. El primero fue al comienzo del experimento, luego a los 30 días y 60 de estar expuestos a los tratamientos. Para realizar este análisis se tomaron 20 hojas de tres árboles en cada tratamiento. Estas muestras fueron colocadas en un horno de laboratorio a 70 °C por un periodo de 24 horas. Luego, las muestras fueron molidas utilizando un molino Wiley y analizadas para P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, B, Mo, Al y S utilizando el procedimiento de digestión recomendado (Perkin-Elmer, 1994). Para determinar el total de nitrógeno en las muestras se utilizó el método de Kjeldahl recomendado en Foss Tecator.

Análisis de datos

Para comparar los bioensayos de hojas expuestos a diferentes niveles de luz solar se llevó a cabo el análisis de supervivencia Kaplan-Meier (“Long Rank”), que mide la supervivencia al pasar el tiempo. Se utilizó el análisis de varianza de dos niveles para comparar los niveles nutricionales de cada uno de los elementos químicos de las hojas entre los cinco diferentes tratamientos y los diferentes tiempos en que éstos fueron medidos. Para encontrar donde estuvieron las diferencias entre tratamientos y tiempos y su interacción se utilizó la prueba de Tukey.

4. Resultados

Bioensayos de hojas (*M. exotica*)

En el primer bioensayo realizado (hojas con 30 días de exposición a los tratamientos) el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier reveló que los psílicos sobreviven más en las hojas expuestas a mayor exposición a la radiación fotosintética activa (PAR). Para el tratamiento 1 (PAR 1562) el 50% de los psílicos estaban muertos el día 25 y para el tratamiento 5 (PAR 48) el 50% estaban muertos al día 19 (Long Rank $X^2=13.957$, $gl=9$, $p=0.00743$) (Fig.4). El tratamiento en el que más sobrevivieron los psílicos fue en el tratamiento 2 (PAR 908), en donde el 50% de éstos permanecieron vivos hasta el día 39 (Fig. 4).

En el segundo bioensayo realizado (hojas con 60 días de exposición a los tratamientos) el análisis de Supervivencia de Kaplan- Meier, al igual que en el primer bioensayo, mostró que los psílicos sobrevivieron mayor cantidad de días en los tratamientos de mayor exposición a radiación fotosintética activa (PAR) (Long Rank $X^2=10.027$, $gl=9$, $p=0.0399$). Para el tratamiento 1 (PAR 1562), 50% de los psílicos permanecieron con vida al día 24 y para el tratamiento 5 (PAR 48) hasta el día 16 (Fig. 5).

Análisis Nutricional de *Murraya exotica*

Se encontraron diferencias significativas para los nutrientes de las hojas de *Murraya exotica* entre los diferentes tratamientos y entre los tiempos medidos para N, P, K, Fe, B, Mn y Al (Tabla 2, Apéndices N-X). Por otro lado no hubo diferencias significativas entre tratamientos pero si en tiempos medidos para Ca y Mo. Los elementos Mg, Zn y S tuvieron un comportamiento homogéneo, sin diferencias significativas tanto entre

tratamientos y tiempos medidos, así como entre la interacción tratamientos y tiempos. El patrón más visible que se observa de esta información es el tratamiento 2 (PAR 908), el cual introduce las mayores variaciones con relación a los otros tratamientos y en varios de los elementos siempre se encuentra alejado del tratamiento 5 (PAR 48), este último mostrando también diferencias con los otros tratamientos pero en un grado menor. En cuanto a la variabilidad significativa entre los tiempos medidos, se observa que las mayores diferencias existen entre el primer tiempo con relación a las medidas tomadas a los 30 y 60 días. No obstante, para P y Mo, sí se encontraron diferencias en todos los tiempos medidos. Las diferencias significativas de la interacción entre tratamiento y tiempos medidos las exhibieron N, Ca, Fe, Mn, B y Al.

Abundancia de psílicos salvajes adultos

Los datos muestran que existen diferencias significativas en la abundancia de psílicos salvajes en los árboles de *M. exotica* entre los distintos tratamientos. Luego de 52 días de exposición ($p=0.0003$, $F=8.58$, $gl=4$) a los tratamientos, se encontró un total de 72 individuos en el tratamiento 1 (PAR 1562), 45 en el tratamiento 2 (PAR 908), 22 en el tratamiento 3 (PAR 756) y 0 en los tratamientos 4 (PAR 460) y 5 (PAR 48) (Fig. 6A). El total de psílicos contabilizados para el experimento fue de 139, con un promedio de 28.8 individuos por unidades expuestas por 52 días a los tratamientos.

A los 75 días de exposición ($p=0.277$, $F=3.42$, $gl=4$) hubo un total de 19 individuos en el tratamiento 1 (PAR 1562), 7 en el tratamiento 2 (PAR 908), 20 en el tratamiento 3 (PAR 756), 3 en el tratamiento 4 (PAR 460) y 0 en el tratamiento 5 (PAR 48) (Fig. 6B). El

total de psíldos contabilizados para el experimento fue de 59, con un promedio de 9.8 individuos por unidades expuestas por 75 días a los tratamientos.

Radiación fotosintética activa, Temperatura y Humedad Relativa

El tratamiento 1 (PAR 1567) tuvo el promedio más alto en temperatura con 26.3 C° y el tratamiento 5 (PAR 48) tuvo la medida de humedad relativa más alta, entre todos, con un promedio de 83.8%. Los tratamientos 2, 3 y 4 exhibieron tanto medidas de temperatura muy homogéneas, así como en las medidas de humedad relativa; con una temperatura de 24 C° y humedad entre 82 y 83% promedio (Tabla 1).

Tabla 1: Valores promedios para la temperatura, humedad relativa y radiación fotosintética activa en los tratamientos.

Tratamientos	Temperatura	Humedad Relativa	Radiación fotosintética activa
1	26.3 C°	76.5%	1567 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
2	24.3 C°	83.6%	908 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
3	24.4 C°	82.2%	756 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
4	24.7 C°	82.7%	460 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$
5	24.4 C°	83.8%	48 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

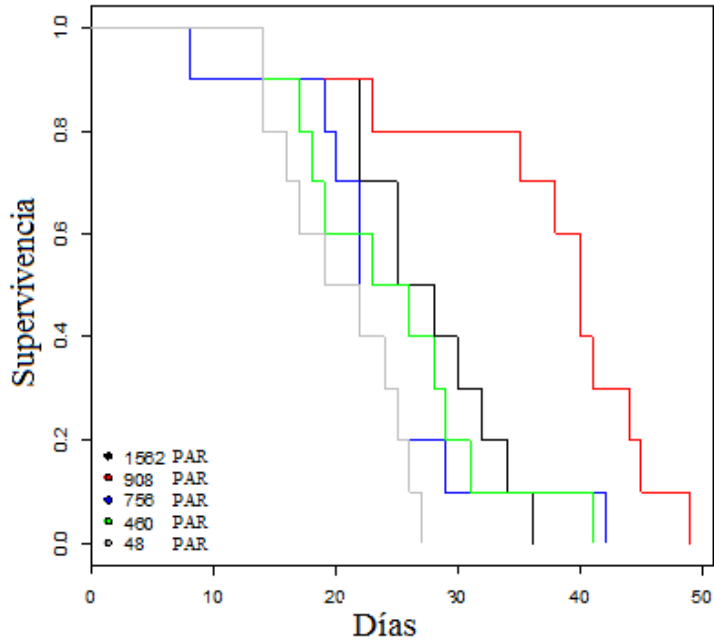


Figura 4: Supervivencia de *D. citri* en las hojas *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) por 30 días. Los datos muestran una diferencia significativa entre los tratamientos (Long Rank $X^2=13.957$, $gl=9$, $p=0.00743$).

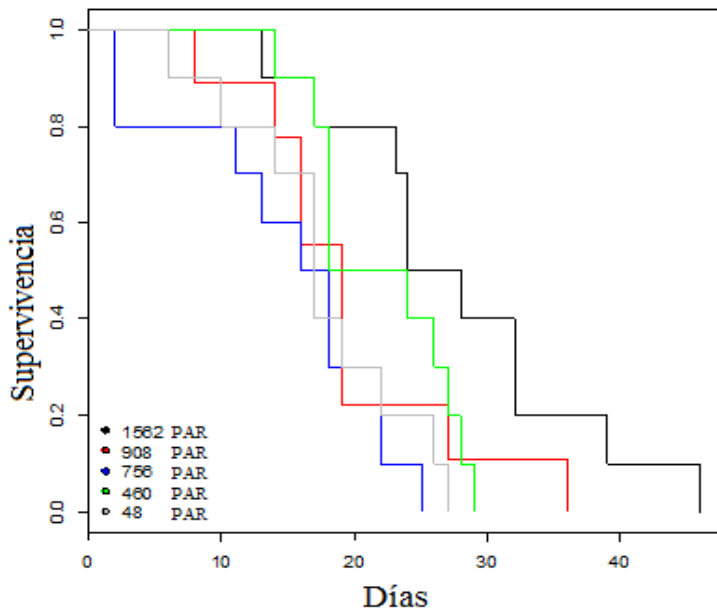


Figura 5: Supervivencia de *D. citri* en las hojas *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa por 60 días. Los datos muestran una diferencia significativa entre los tratamientos (Long Rank $X^2=10.027$, $gl=9$, $p=0.0399$).

Tabla 2: Análisis nutricional de las hojas de *Murraya exotica* bajo diferentes niveles de intensidad de luz al comienzo del experimento, luego de 30 días y 60 días. (% de peso seco)

Tratamientos	1(PAR1562)			2(PAR908)			3(PAR756)			4(PAR460)			5(PAR48)		
	0 días	30 días	60 días	0 días	30 días	60 días	0 días	30 días	60 días	0 días	30 días	60 días	0 días	30 días	60 días
% N	3.4	4.6	4.7	3.11	3.7	4.28	3.04	4.25	4.5	3.05	4	4	3.07	3.6	3.61
% P	0.51	0.84	1.13	0.36	0.6	0.84	0.58	0.82	1.16	0.39	0.87	1.1	0.53	0.93	1.1
% K	3.33	3.4	3.4	2.55	2.9	2.79	3.62	3.2	3.15	3.27	3.47	3.14	3.13	3.4	3.5
% Ca	1.78	1.3	1.6	1.54	1.5	2.04	1.65	1.4	1.99	1.2	1.76	2.1	0.93	1.6	2.1
% Mg	0.38	0.36	0.35	0.45	0.4	0.5	0.38	0.41	0.44	0.35	0.46	0.48	0.3	0.43	0.49
ppm Fe	60.7	43.67	36.3	47.33	55.0	50.67	65.33	60.7	50.67	42.33	63	54.7	49.33	73.3	75.3
ppm Mn	37.3	27	33	21.33	26.3	30.3	29.33	35.3	45.7	22.7	29.6	34.7	30.67	45	54
ppm Zn	30.3	18	18.67	17.7	21.0	28.3	22.3	41.3	13.67	19	18.6	16	23.33	19.33	25.3
ppm B	25.7	30	33.3	19	25.3	29	25.3	28.7	32.7	20.7	30.6	30	21	36.3	40.3
ppm Mo	0.85	0.92	0.05	1.17	1.0	0.68	0.96	0.91	0.71	0.85	0.95	0.45	0.74	0.69	0.37
ppm Al	89.7	88.3	37.8	52.8	122.6	32.7	91.7	143.7	35.3	74.67	104.3	43	72	300.7	56
ppm S	1893	658.8	785.3	2222	1473.3	2102.3	1765	778.7	994.3	881	1221.6	1094	708.3	2168	2403.3

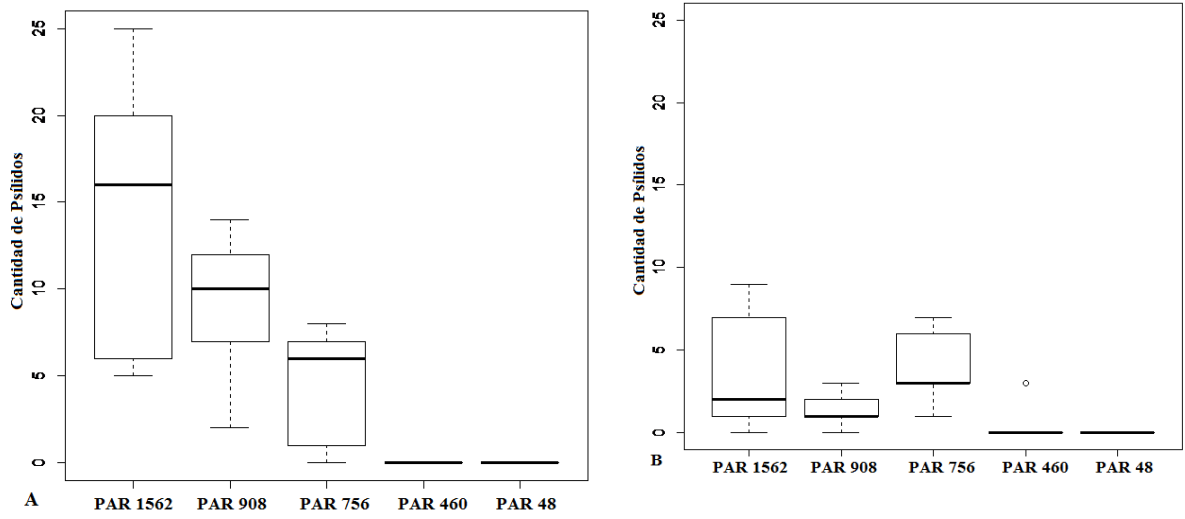


Figura 6: Cantidad de psílicos salvajes adultos en los árboles de *M. exotica* por tratamientos. A) Cantidad de psílicos luego de 52 días de exposición a los tratamientos. Se observan diferencias significativas en la cantidad psílicos adultos ($p=0.0003$, $F=8.58$, $gl=4$). B) Cantidad de psílicos luego de 75 días de exposición a los tratamientos. Se observan diferencias significativas en la cantidad psílicos adultos ($p=0.277$, $F=3.42$, $gl=4$).

5. Discusión

La evidencia anecdótica indica que existen poblaciones más bajas de psílicos y menor incidencia de enfermedades en los cítricos cultivados en ambientes con mayor sombra. Uno de los objetivos de este estudio fue ver si la longevidad del psílido asiático (*Diaphorina citri*) se veía afectado por otros hospederos como el mirto (*Murraya exotica*), uno de sus hospederos frecuentes, expuestos a diferentes niveles de luz solar. Nuestros resultados indicaron que sí hubo una diferencia en la longevidad de los psílicos entre los tratamientos para ambos bioensayos.

Cuando se comparan los dos bioensayos de hojas, se puede observar en ambos que los psílicos tienen mayor longevidad en los tratamientos que recibieron una mayor cantidad de radiación fotosintética activa. Sin embargo, cuando se comparó su supervivencia en el tiempo, los dos bioensayos mostraron una reducción en la longevidad de los psílicos. La longevidad de los psílicos para el tratamiento 1 (PAR1567) fue similar en ambos bioensayos, con una duración promedio de 27 días. Para los tratamientos 2 (PAR 908), 3 (PAR 756), y 4 (PAR460) hubo muy pequeñas variaciones de la longevidad, limitadas a uno o dos días en reducción de la supervivencia, mientras que en el tratamiento 5 (PAR48) se observó que la supervivencia en el primer bioensayo tuvo un promedio de 23 días, mientras que en el segundo bioensayo fue de 19 días, mostrando una reducción promedio de 4 días. Estos resultados concuerdan con los estudios de Lui y Tsai (2000), donde la longevidad promedio fue de 31 días a 30 C°, y con el trabajo de Richardson y Hall (2012), quienes reportan fue de 90 días a 27 C°. Esto tiene implicaciones importantes ya que los psílicos adultos más jóvenes tienen menos oportunidades de llegar a poner huevos y de

encontrar tejido vegetal joven donde colocarlos. Por otro lado, existe una competencia con las ninfas por alimento, como también fue reportado por Lui y Tsai (op. cit.).

La luz es de suma importancia para los procesos fisiológicos de una planta ya que la intensidad de luz afecta su metabolismo primario o secundario. La reducción de luz solar ocasiona un efecto negativo en la fotosíntesis, lo que implica una reducción en la producción de carbohidratos (Schoonhoven, et al., 2005). También, la sombra puede cambiar aspectos morfológicos de las plantas, tales como el grosor y el espacio entre las venas de las hojas (Schoonhoven et al., 2005).

Cuando el consumo de nutrientes de una planta bajo la sombra es afectado, se aprecia una baja en la razón de carbono/nitrógeno, causando bajas en los metabolitos con bases de carbono como los fenólicos (Schoonhoven et al., 2005). Esta baja de nitrógeno se pudo apreciar en nuestro análisis nutricional a partir del tratamiento 2 PAR (908), en el que hubo una reducción apreciable de este elemento. Otros insectos chupadores también se ven afectados cuando se alimentan en plantas que reciben diferentes cantidades de luz solar, como lo es el psílido *Cardiaspina densitexta*. Esta especie prefiere plantas con mayor exposición a la luz solar, ya que las plantas en la sombra producen una savia de baja calidad que, incluso, puede ser mortal para las ninfas (White, 1970). El estudio de White (1970) concuerda con nuestros hallazgos, pues se observó un efecto reductor en la longevidad del psílido asiático en los hospederos de *M. exotica* expuestos a mayor sombra.

Se encontró que la población de psílicos asiáticos salvajes en los árboles expuestos a mayor intensidad de luz solar, contenía la mayor cantidad de individuos. El número total de psílicos bajó dramáticamente en el segundo conteo (75 días), con un total de 49 insectos. Esta cantidad es prácticamente un tercio del valor total encontrado en el primer conteo (45 días) (Fig. 6). Cuando comparamos el número de psílicos contados en los tratamientos

1(PAR 1562) y 2 (PAR 908), encontramos que la diferencia entre ambos es de una magnitud de tres veces más alta que el conteo a los 52 días, indicando que la longevidad de estos insectos se ve afectada por el factor tiempo. Esta diferencia encontrada entre estos dos tratamientos concuerda con el cambio significativo que se observó para varios de los nutrientes medidos. Existe una diferencia radical entre estos dos tratamientos y especialmente en el 2 (PAR 908).

En el presente estudio, el psílido asiático mostró cierta discriminación contra los árboles con mayor sombra. A diferencia de los psílicos en los bioensayos de la hoja de *M. exótico*, los psílicos salvajes podían moverse libremente por los árboles en los tratamientos. Este comportamiento de discriminación fue reportado por Rowe y Potter, 2000 con el escarabajo japonés, *Popillia japonica*, el cual presentó rechazo hacia las hojas que crecían bajo la sombra.

Otros largos de ondas, como los que están en la región espectral UV-A, pueden afectar negativamente el desarrollo, fecundidad y fertilidad entre los hemípteros conocidos como la mosca blanca (“whiteflies”) (Dáder et al., 2014). Además, Miranda et al. (2015) reportaron por primera vez que la ausencia o la baja radiación UV para *Diaphorina citri* afecta los procesos de orientación y la búsqueda de hospederos. Los autores de este trabajo también demostraron que la baja radiación UV interrumpía la habilidad del psílido de moverse y establecerse en un hospedero, además de inhibir su habilidad de despegar (vuelo) como se ha reportado en otros hemípteros (Coombe 1982, Lagarrea et al., 2012).

Las diferencias en la luz y la sombra afectan aspectos de las plantas, tales como el tamaño de los cloroplastos, la abundancia de las clorofilas a y b, y la cantidad de clorofila en comparación a las proteínas solubles en la planta (Givnish, 1980). En todos estos factores están involucrados los macro- y micro-nutrientes que tienen las plantas a su

disposición. En el presente estudio, se observó un aumento de nitrógeno orgánico (Kjeldahl) en los tratamientos que recibían mayor luz solar (las preferidas por el psílido). El crecimiento de muchos insectos está relacionado positivamente con el contenido de nitrógeno en la planta hospedera (McEvoy, 1984). El incremento de nitrógeno observado en el análisis nutricional, según aumentaba la luz solar, pudo ser un factor determinante para la longevidad del psílido asiático, ya que estos organismos se alimentan del floema de la planta.

El hierro mostró un aumento según disminuía la cantidad de luz solar (Tabla 2). Este aumento se pudo deber a que el hierro está involucrado en la síntesis de clorofila. El aluminio mostró un aumento en el tratamiento en el que recibía menos luz. Éste es tóxico para las plantas y puede disminuir la producción de frutos y crecimiento (Mesor-Pietraszewska, 2001). Esto puede afectar el valor nutricional de la plantas así afectando los psílicos que se alimentaron de estas hojas en los bioensayos realizados. Un aumento en boro en los tratamientos de mayor sombra pudo ser una respuesta de la planta para aumentar su defensa contra las plagas, ya que éste interactúa en la síntesis de flavonoides y fenólicos que están involucrados en la defensa de las plantas (Spann y Sumann, 2013). De ser así, estos resultados pueden ayudar a manejar las poblaciones de psílicos.

La planta hospedera, *M. exotica*, es muy susceptible a la sombra, produciendo menos frutos y poco crecimiento de hojas (Francis, nd). El conocer las diferencias en los nutrientes acumulados en las hojas y su relación con el nivel de iluminación solar, puede ser importante ya que nos da la posibilidad de ajustar la cantidad de abono necesario para que la planta no resulte agradable para el psílido, especialmente cuando las poblaciones de estos insectos son altas.

6. Conclusiones

Los resultados obtenidos en esta investigación revelan lo siguiente:

- ❖ La longevidad del psílido asiático (*Diaphorina citri*) disminuye según disminuye la radiación fotosintética activa (PAR) en el hospedero (*Murraya exotica*).
- ❖ El comportamiento de los nutrientes en los árboles depende de la radiación fotosintética, aumentado algunos nutrientes dependiendo de esta exposición, lo cual favorece a los psílicos en su alimentación y supervivencia. El nitrógeno, fósforo, potasio y hierro, elementos indispensables para los procesos de síntesis de moléculas orgánicas, aumentaron con mayor exposición a la radiación solar y favorecieron la supervivencia de estos organismos.
- ❖ La radiación fotosintética juega un papel importante en el balance de los nutrientes absorbidos por los árboles, y no solo varían en sus concentraciones de acuerdo a esta intensidad lumínica, sino que también varían respecto al tiempo de exposición a ésta. Este balance de nutrientes por parte de la plantas incluye su supervivencia pero también sus mecanismos de defensa hacia sus patógenos.

7. Recomendaciones

Luego de realizar este estudio y analizar los resultados se recomienda:

- ❖ Realizar un bioensayo de hoja de cítricos utilizando la elevación como tratamiento.
- ❖ Realizar bioensayos en otros hospederos de *Diaphorina citri*
- ❖ Realizar un estudio manipulando el contenido nutricional los hospederos de *Diaphorina citri* para poder ver preferencias por hospederos con mayor o menor cantidad de nutrimentos específicos.
- ❖ Enfocar estudios en el control del contenido nutricional de los cítricos y ver cómo se afecta la longevidad del psílidos.
- ❖ Aumentar la siembra de cítricos en lugares con sombra para limitar las poblaciones de los psílidos. Esto facilita o mejora la utilización de insecticidas ya que éstos se pueden enfocar más en los árboles que reciban cantidad mayor luz solar.

Literatura Citada

- Ammar, E. D., R. G. Shatters, C. Lynch y D. G. Hall, 2011. Detection and relative titer of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in the salivary glands and alimentary canal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) vector of citrus huanglongbing disease. *Annals of the Entomological Society of America* 104: 526–533.
- Ammar, E.-D., A. J. Walters y D. G. Hall, 2013. New Excised-Leaf Assay Method to Test Inoculativity of Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae) with *Candidatus Liberibacter Asiaticus* Associated with Citrus Huanglongbing Disease. *Journal of Economic Entomology* 106: 25–35.13.
- Anon, 2004. Greening chegaos pomares paulistas. *Rev. Fundecitrus* Ano XX, no. 123: 8-12.
- Aponte, C. E., E. Boneta, R. Bosque, Cibes, L. J. Lui, A. Llorens, M. E. Pérez, R. Pérez, E. Toro, C. J. Torres y A. Torres, 1977. Conjunto tecnológico para la producción de cítricas. Estación Experimental Agrícola, Río Piedras, P.R. pp. 10-11.
- Aubert, B., y X. Y. Hua, 1990. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus and *Murraya* canopies. *Proceedings of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation*, February 1990, Chiang Mai, Thailand (ed. by B Aubert, S Tontyaporn & D Buangsuwon), pp. 181–187. FAO UNDP, Rome, Italy.
- Beattie, G. A. C., D. J. Mabblerley, P. Holford, P. Broadbent y P. Barro, 2005. Huanglongbing: its possible origins, collaborative research in Southeast Asia, and developing incursion management plans for Australia. *Proc. 2nd Int. Citrus Canker & Huanglongbing Res. Workshop*: 52.
- Bove, J. M., 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88: 7–37.

- Capoor, S. P., 1963. Decline of citrus trees in India. Bulletin of National Institute of Health Sciences. India 24: 48-64.
- Coombe, P.E., 1982. Visual behavior of greenhouse white fly *Trialeurodes vaporariorum*. Physiology Entomology. 7:243-251.
- Dáder, B., D. Gwynn-Jones, A. Moreno, A. Winters y A. Fereres, 2014. Impact of UV-A radiation on the performance of aphids and whiteflies on the leaf chemistry of their host plant, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 138:307-316.
- Francis, J. K., n.d. *Murraya exotica* L.
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?rep=rep1&type=pdf&doi=10.1.1.214.4615> Visita 4 de noviembre 2015
- French, J. V., C. J. Kahlke y J. V. Da Graca, 2001. First record of the Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), in Texas. Subtropical Plant Science 53: 14-15.
- Étienne, J., D. Burckhardt y C. Grapin, 1998. *Diaphorina citri* (Kuwayama) en Guadeloupe, premier signalement pour les Caraïbes (Hem., Psyllidae). Bulletin de la Société entomologique de France, 103(1).
- García, C. S., 2009. *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), vector de la bacteria que causa el Huanglongbing (HLB–Greening). Buenos Aires (Argentina) Ministerio de la Producción, Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria.
- Givnish, T. J., 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. Functional Plant Biology, 15(2), 63-92.

- Gottwald, T. R., 2007. Citrus canker and citrus huanglongbing, two exotic bacterial diseases threatening the citrus industries of the Western Hemisphere. *Outlooks on Pest Management* 18: 274–279.
- Halbert S. E., L. Brown y W. Dixon, 1998. Asian citrus psyllid update: Florida Department of Agriculture & Consumer Services. *Plant Industry* 18 Nov.
- Halbert, S. E. y C. A. Nuñez, 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. *Florida Entomologist* 87: 401–402.
- Halbert, S., 2005. The discovery of huanglongbing in Florida. *Proc. 2nd Int. Citrus Canker & huanglongbing Res. Workshop*: 50.
- Hall, D. G., 2009. An assessment of yellow sticky card traps as indicators of the relative abundance of adult *Diaphorina citri* in citrus. *Journal of Economic Entomology* 102:446–452.
- Hall, D. G., M. L. Richardson, E. D. Ammar y S. E. Halbert, 2013. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146(2), 207-223.
- Husian, M. A. y L. D. Nath, 1927 *The Citrus Psylla:(Diaphorina Citri, Kuw.) Psyllidae: Homoptera*. Government of India Central Publication Branch. 10 (2), 5-27.
- Jenkins, D. A., D. G. Hall y R. Goenaga, 2015. *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) abundance in Puerto Rico declines with elevation. *Journal of Economic Entomology*, 108:252-258.

- Legarrea, S., P. Weintraub, M. Plaza, E. Viñuela, and A. Fereres. 2012. Dispersal of aphids, whiteflies and their natural enemies under photoselective nets. *BioControl* 57:523–532
- Lima, A. M., 1942. *Insectos do Brazil: Homopteros* 8, Rio de Janeiro. Imprenso Nacional, p. 101.
- Liu, Y. H. y J. H. Tsai, 2000. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Annals of Applied Biology* 137: 201–206.
- Mann, R. S., K. Pelz-Stelinski, S. L. Hermann, S. Tiwari y L. L. Stelinski, 2011. Sexual transmission of a plant pathogenic bacterium, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, between conspecific insect vectors during mating. *PLoS ONE* 6: e29197.
- Mann, R. S., J. G. Ali, S. L. Hermann, S. Tiwari, K. S. Pelz-Stelinski, H. T. Alborn y L. L. Stelinski, 2012. Induced Release of a Plant-Defense Volatile ‘Deceptively’ Attracts Insect Vectors to Plants Infected with a Bacterial Pathogen. *PLoS Pathogens* 8: e1002610.
- McClellan, A. P. D. y R. E. Schwartz, 1970. Greening of blotchy-mottle disease in citrus. *Phytophylactica* 2: 177–194. Pacific Island ecosystems at risk (2015). Invasive plant species: *Murraya paniculata* (L) Jack, Rutaceae http://www.hear.org/pier/species/murraya_paniculata.htm.
- McEvoy, P.B., 1984. Increase in respiratory rate during feeding in larvae of the cinnabar 2 moth *Tyria jacobaeae*. *Physiological Entomology*, 9, 191–5.
- Miranda, M. P., F. L. Dos Santos, M. R. Felipe, A. Moreno y A. Fereres, 2015. Effect of UV-Blocking plastic films on take-off and host plant finding ability of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Journal of Economic Entomology*, tou036.

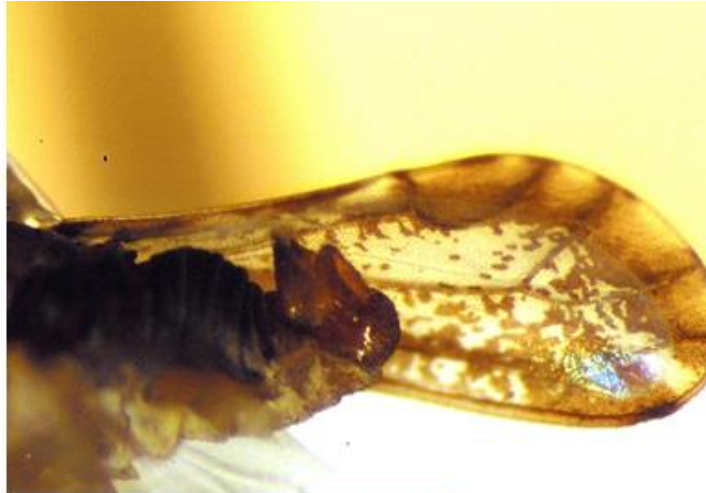
- Mossor-Pietraszewska, T., 2001. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *Acta bioquímica polonica-english edition*-, 48(3), 673-686.
- Neal, M. C., 1965. In gardens of Hawaii. Special publication 50. Bernice P. Bishop Museum press, Honolulu, HI. 924 pp.
- Nava, D. E., M. L. G. Torres, M. D. L. Rodrigues, J. M. S. Bento y J. R. P. Parra, 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *Journal of Applied Entomology* 131: 709–715.
- Negreros-Castillo, P. y R. B. Hall, 1994. Four methods for partial overstory removal in tropical forest of Mexico. *Journal of Environmental Management* 41 (3): 237-243.
- Pacific Island Ecosystems at risk, 2002. Invasive species: *Murraya paniculata* (L.) Jack, Rutaceae. http://www.hear.org/pier/species/murraya_paniculata.htm.
- Parrotta, J. A., 2001. Healing plants of peninsular India. CABI Publishing, Wallingford, UK and New York. 917 p.
- Pelz-Stelinski, K. S., R. H. Brlansky, T. A. Ebert y M. E. Rogers, 2010. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 103(5): 1531-1541.
- Perkin-Elmer, 1994. Analytical methods for atomic absorption spectrometry. The Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, Connecticut. 300pp.
- Pluke, R. W. H., A. Escribano, J. P. Michaud y P. A. Stansly, 2005. Potential impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist*, 88(2), 123-128.

- Pluke, R. W. H., J. A. Qureshi y P. A. Stansly, 2008. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. Florida Entomologist 91: 36–41.
- Richardson, M. L., D. G. Hall, 2012. Resistance of Poncirus and Citrus 9 Poncirus germplasm to the Asian citrus psyllid. Crop Science. oi:10.2135/cropsci2012.02.0091.
- Rowe, W. J. y D. A. Potter, 2000. Shading effects on susceptibility of *Rosa* spp. to defoliation by *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). Environmental Entomology, 29, 502–8.
- Schoonhoven, L. M., J. J. Van Loon y M. Dicke, 2005. Insect-plant biology (No. Ed. 2). Oxford University Press.
- Spann, T. M., y A. W Schumann, 2013. Mineral nutrition contributes to plant disease and pest resistance.
- Tiwari, S., R. S. Mann, M. E. Rogers y L. L. Stelinski, 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. Pest Management Science, 67(10), 1258-1268.
- White, T. C. R., 1970. The nymphal stage of *Cardiaspina densitexta* (Homoptera: Psyllidae) on leaves of *Eucalyptus fasciculosa*. Australian Journal of Zoology, 18, 273–3.
- Zhao, X.-Y., 1981. Citrus yellow shoot (huanglongbing) in China- a review. In Proceedings of the international society of citriculture, November 9-12, 1981,. International Society of Citriculture. Tokyo, Japan 1:466-469.

Apéndices



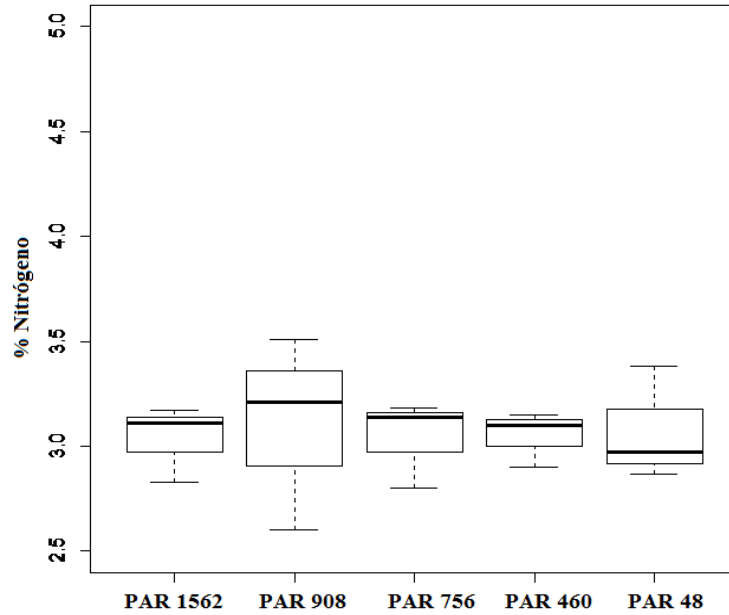
Apéndice A: Hembra adulta del psílido asiático. Foto por David Hall, USDA.



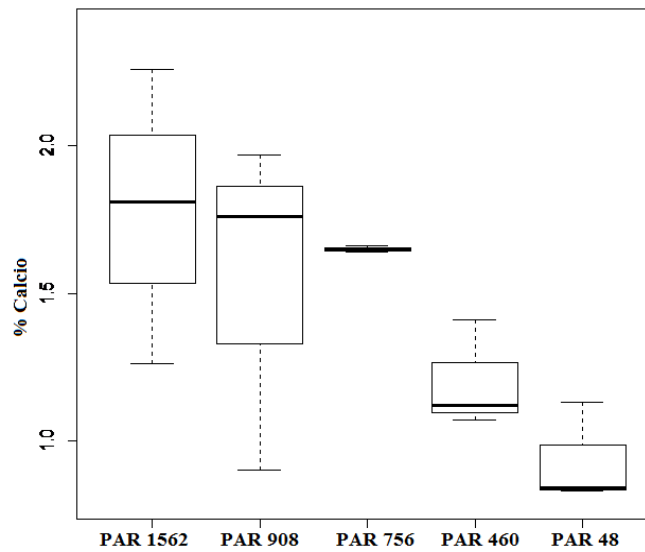
Apéndice B: Macho adulto del psílido asiático. Foto de David Hall, USDA.



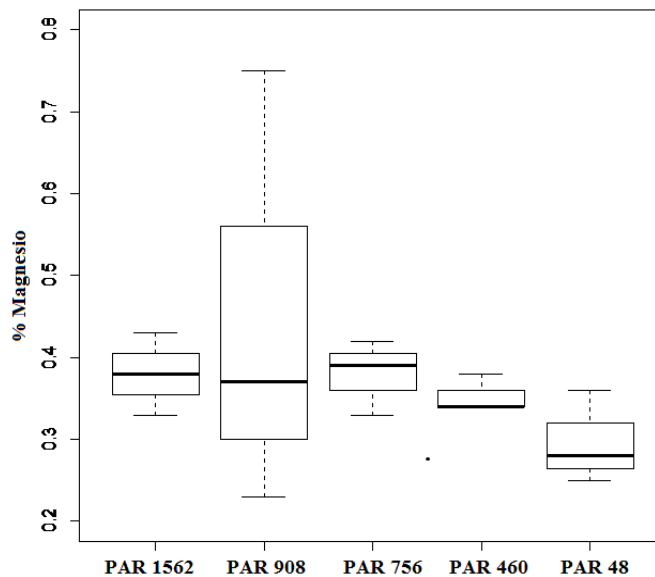
Apéndice C: Estados ninfales del psílido asiático (*Diaphorina citri*). Foto por David Hall, USDA



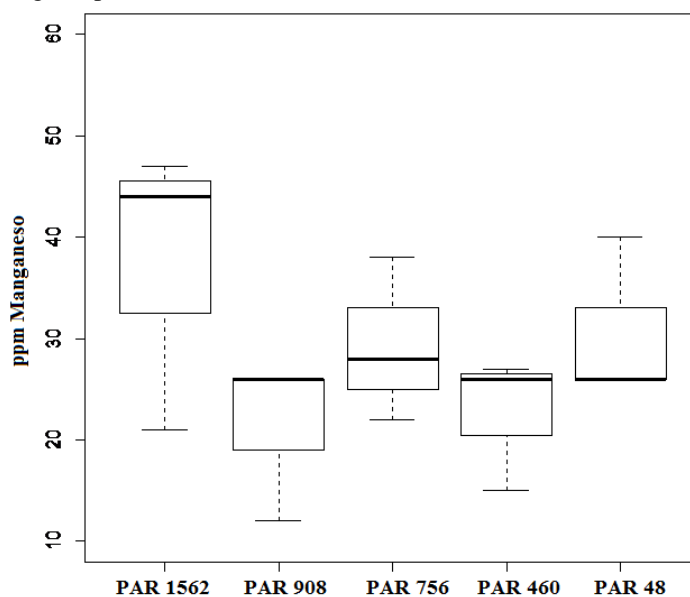
Apéndice D: Concentración de nitrógeno en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($F=0.03$, $gl=4$, $p=0.9975$).



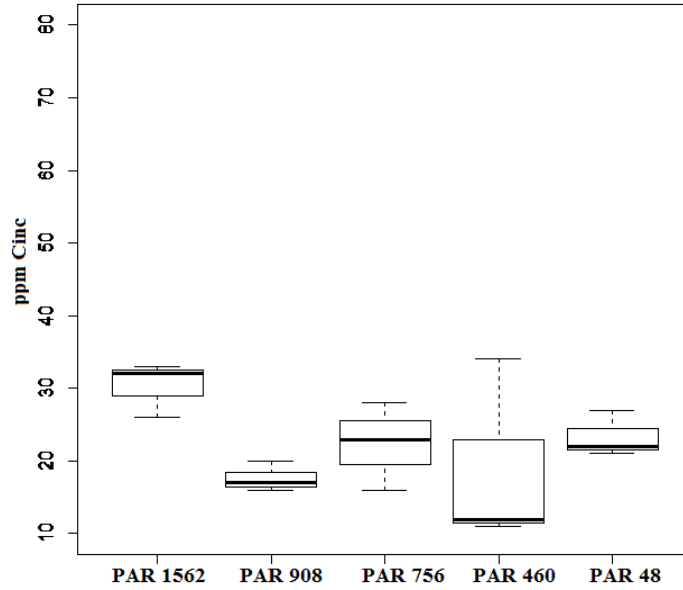
Apéndice E: Concentración de calcio en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($F=2.84$, $gl=4$, $p=0.0825$).



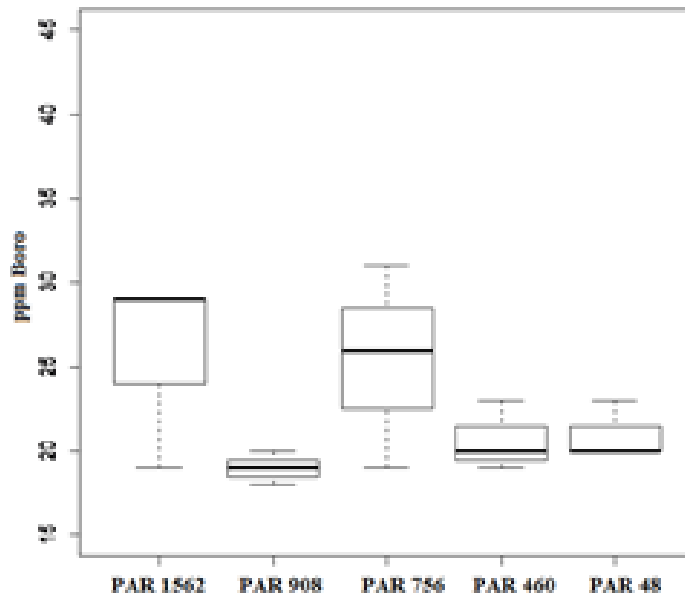
Apéndice F: Concentración de magnesio en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($F=0.57$, $gl=4$, $p=0.6918$).



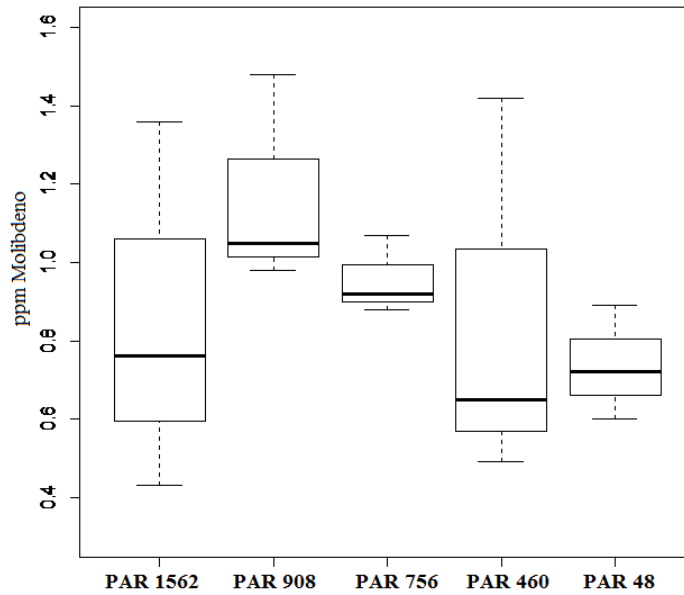
Apéndice G: Concentración de manganeso en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($F=1.43$, $gl=4$, $p=0.2444$).



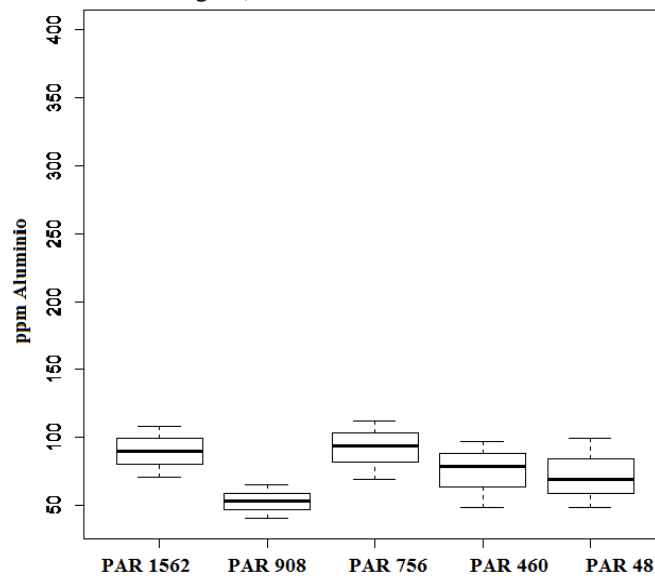
Apéndice H: Concentración de cinc en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($F=1.56$, $gl=4$, $p=0.2578$).



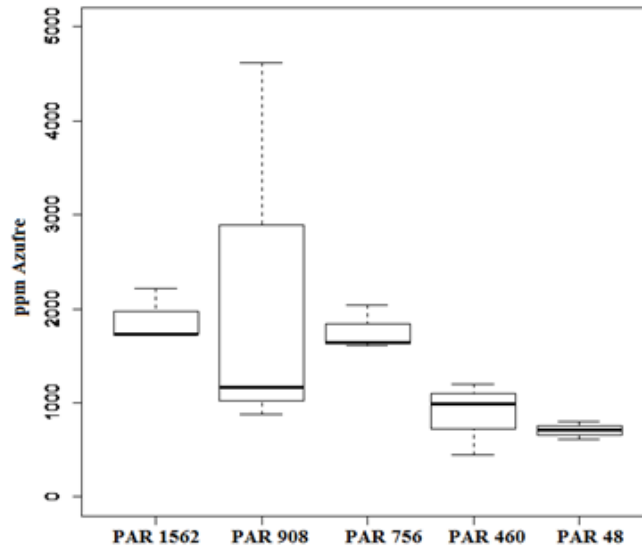
Apéndice I: Concentración de boro en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($F=1.17$, $gl=4$, $p=0.2217$).



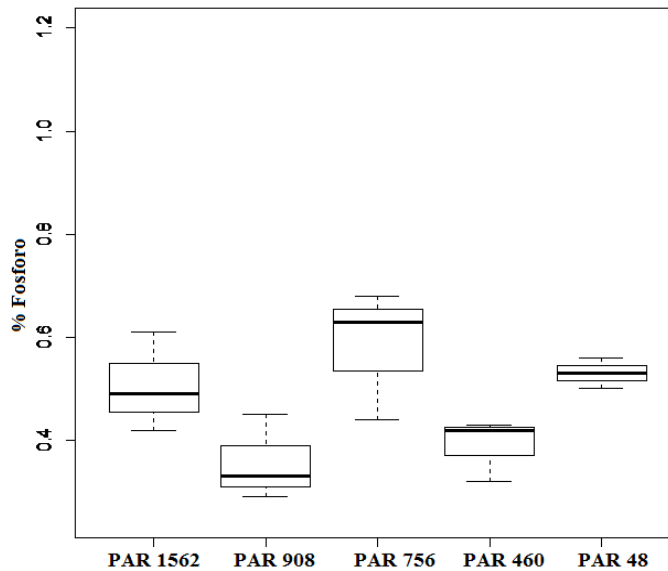
Apéndice J: Concentración de molibdeno en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.6117$, $F=0.70$, $gl=4$).



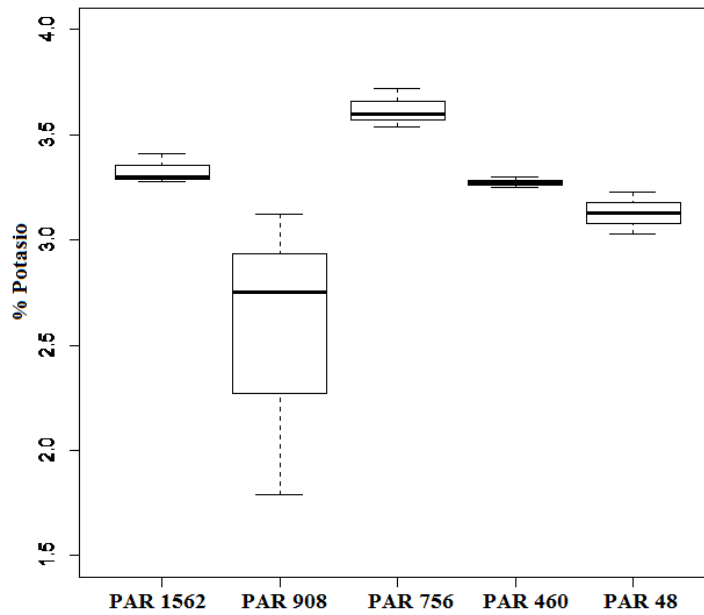
Apéndice K: Concentración de aluminio en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.2331$, $F=1.67$, $gl=4$).



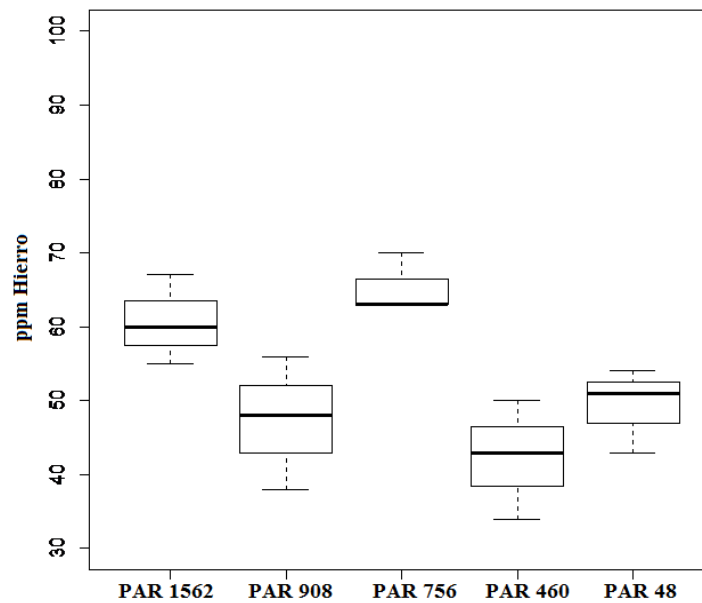
Apéndice M: Concentración de azufre en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos no muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.2932$, $F=1.43$, $gl=4$).



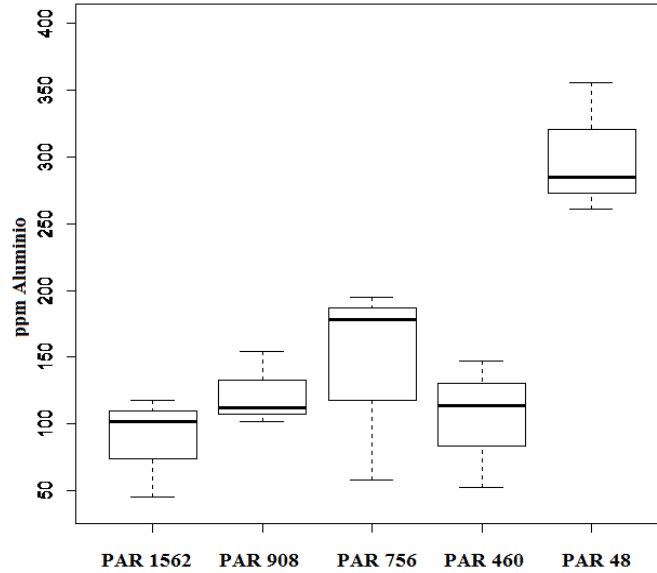
Apéndice N: Concentración de fósforo en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0404$, $F=3.77$, $gl=4$).



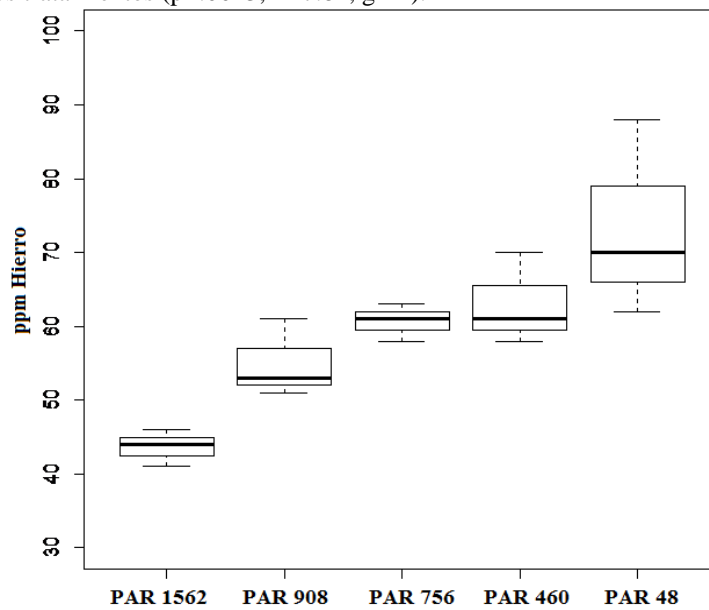
Apéndice O: Concentración de potasio en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0216$, $F=4.70$, $gl=4$).



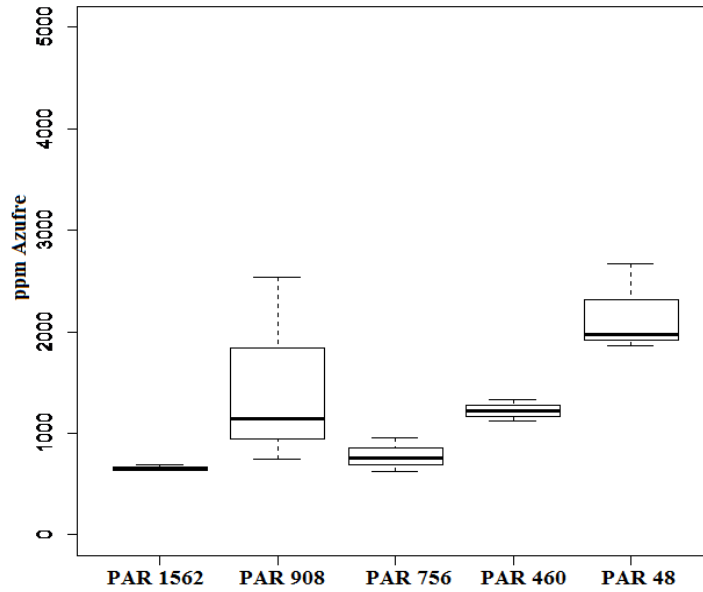
Apéndice P: Concentración de hierro en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) al comienzo del experimento. Los datos muestran una diferencia significativa entre los tratamientos ($p=.00099$, $F= 6.02$, $gl=4$).



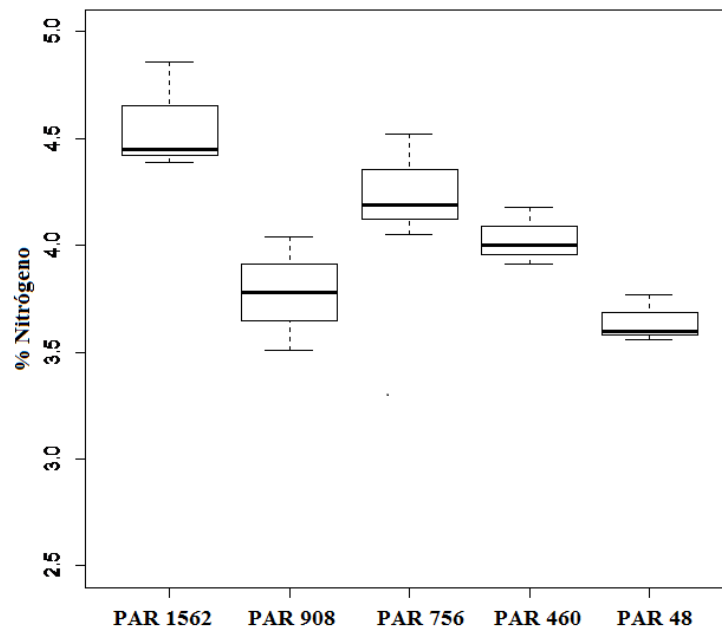
Apéndice Q: Concentración de aluminio en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 30 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0043$, $F=7.81$, $gl=4$).



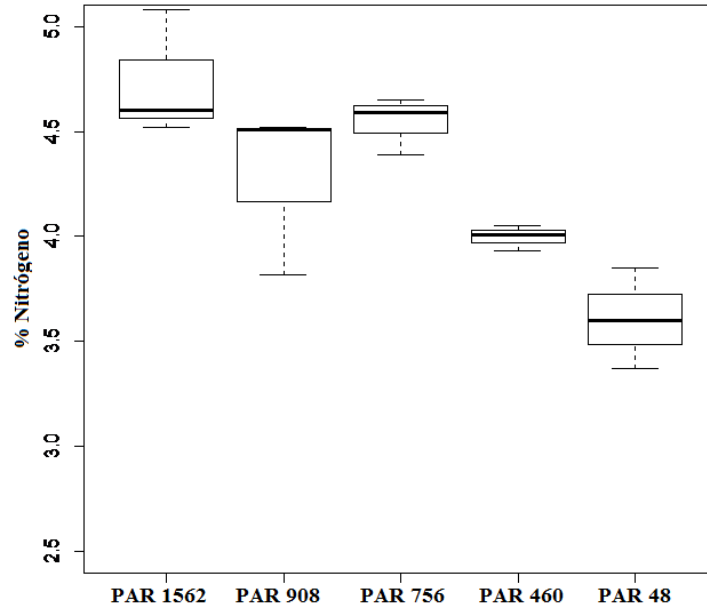
Apéndice R: Concentración de hierro en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 30 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0171$, $F=5.10$, $gl=4$).



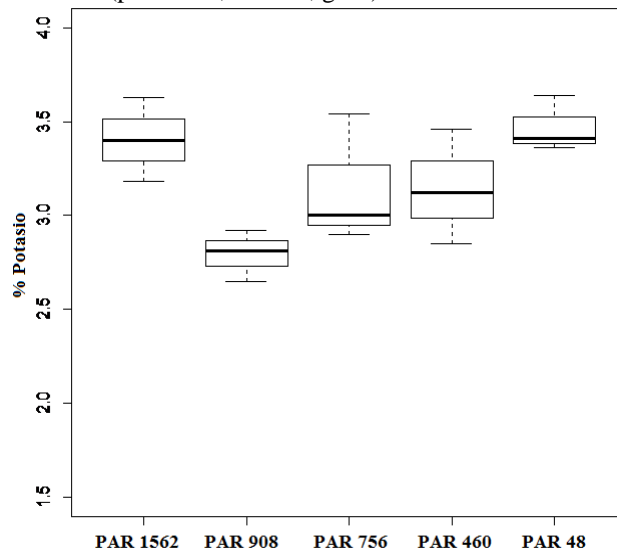
Apéndice S: Concentración de azufre en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 30 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0473$, $F=3.56$, $gl=4$).



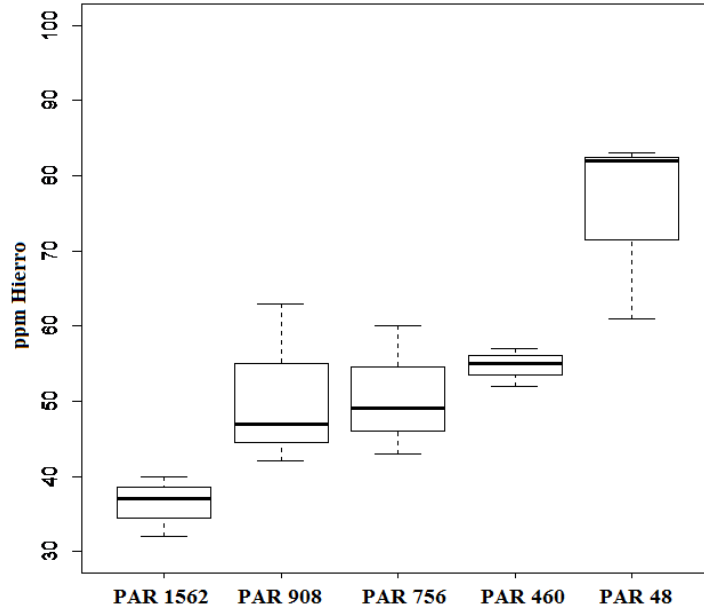
Apéndice T: Concentración de nitrógeno en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 30 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0072$, $F=6.69$, $gl=4$).



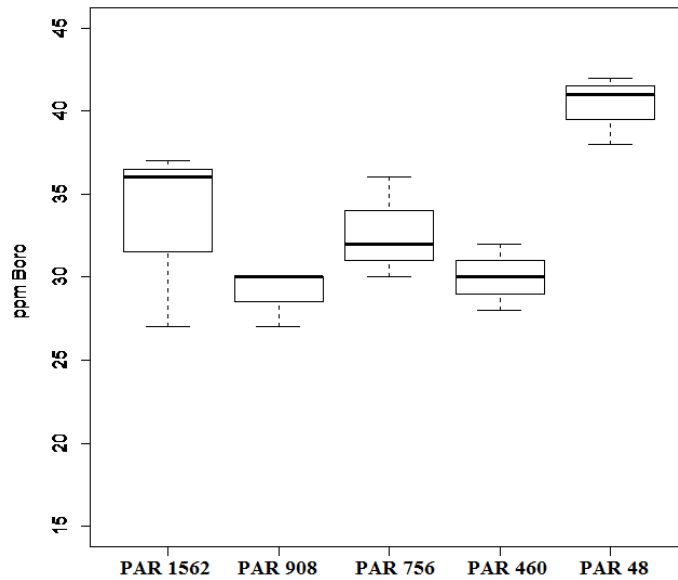
Apéndice U: Concentración de nitrógeno en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 60 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0024$, $F=8.99$, $gl=4$).



Apéndice V: Concentración de potasio en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 60 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=.0482$, $F=3.53$, $gl=4$).



Apéndice W: Concentración de hierro en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 60 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.0037$, $F=7.96$, $gl=4$).



Apéndice X: Concentración de boro en las hojas de *M. exotica* expuestas a distintos niveles de radiación fotosintética activa (PAR) luego de 60 días de exposición a los tratamientos. Los datos muestran diferencias significativas entre los tratamientos ($p=0.011$, $F=5.81$, $gl=4$).