

Bases ecológicas para el desarrollo de *Tamarixia radiata* W. (Hymenoptera: Eulophidae), biorregulador del vector del Huanglongbing en Cuba

Autoría principal

Heyker L. Baños, María A. Martínez, Ileana Miranda Cabrera

Otros autores

Juan Alemán Martínez, Héctor Rodríguez Morell, Moraima Suris, Adayakni Sánchez

Colaboradores

Susana Ramírez, Reynaldo Chico, Hugo Leonardo Benítez y Yonnia Castillo

Entidad ejecutora principal

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)

Autor para correspondencia

Ing. **Heyker Baños Díaz** DrC.

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, Apdo 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Correo: (hlellani@censa.edu.cu).

Aporte científico de cada autor al resultado

- ✓ Ing. Agrónomo **Heyker L. Baños Díaz** (25%): Doctor en Ciencias Agrícolas. Investigador Agregado del CENSA. Trabajó en el diseño de la investigación, montaje y evaluación de experimentos, escritura de resultados. Participó activamente en los muestreos y es autora de las publicaciones y eventos derivados de esta investigación. Los resultados forman parte de su tesis de doctorado.
- ✓ Ing. Agrónomo **María de los A. Martínez Rivero** (20%): Doctor en Ciencias. Investigador Titular del CENSA. Trabajó en el diseño de la investigación, dio seguimiento a varios de los experimentos y en el análisis y revisión de todos los resultados. Participó en muestreos de campo. Es autor de varias publicaciones y eventos derivados del trabajo.
- ✓ Lic. Matemática **Ileana Miranda Cabrera** (20%): Doctor en Ciencias Agrícolas. Investigador Titular del CENSA. Participó en el diseño y en muestreos de campo. Elaboro los modelos matemáticos para la predicción de la dinámica poblacional. Responsable del procesamiento estadístico de la información obtenida en todos los experimentos. Es autora de varias publicaciones y presentaciones en evento.
- ✓ Ing. Agrónomo **Juan Alemán Martínez** (10%): Doctor en Ciencias Agrícolas. Investigador Auxiliar del CENSA. Trabajó en el diseño de la investigación, montaje y evaluación de experimentos, escritura de resultados, líder de los proyectos que dieron origen a algunos de los resultados. Participó en los muestreos y es autor de algunas publicaciones y eventos derivados de esta investigación.
- ✓ Ing. Agrónomo **Héctor Rodríguez Morell** (5%): Doctor en Ciencias Agrícolas. Investigador Titular del CENSA Participó en el diseño de la investigación, montaje de experimentos y muestreos de campo. Participó en el análisis científico-práctico de los resultados. Es autor de las publicaciones y presentaciones en eventos.
- ✓ Lic. Biología **Moraima Suris Campos** (5%): Doctor en Ciencias Agrícolas. Investigador Auxiliar del CENSA. Participó en el diseño de los experimentos y en el asesoramiento de la

marcha del proyecto y de los resultados, es autora de las publicaciones y eventos derivados de la investigación.

- ✓ Lic. Biología **Margarita Ceballos Vázquez** (5%): Doctor en Ciencias Agrícolas. Investigador Auxiliar del CENSA. Participó en el diseño de los experimentos y en el asesoramiento de la marcha del proyecto y de los resultados. Es autora de publicaciones en proceso de revisión.
- ✓ Ing. Agrónomo **Adayakni Sánchez Castro** (5%): Técnico B en Ciencias Biológicas. Trabajó como técnico principal del proyecto, participando en todos los muestreos de campo, montaje y evaluación de experimentos en el laboratorio, atención a las crías y en la búsqueda de alternativas materiales para la cría en el laboratorio.

Resumen

Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es el vector de *Liberibacter* spp., bacteria causante de la enfermedad conocida como Huanglongbing, catalogada como la más destructiva y letal para los cítricos a nivel mundial. Para el control de este vector ha sido práctica común, el incremento de las poblaciones del parasitoide *Tamarixia radiata* por lo es necesario demostrar a través de estudios ecológicos su eficacia como biorregulador y desarrollar un procedimiento de cría viable que incrementen los niveles poblacionales actuales del parasitoide. Los estudios integrales realizados demostraron que bajo las condiciones de Cuba el parasitoide presenta un corto ciclo de desarrollo y una alta capacidad de crecimiento poblacional con respecto al hospedante y además ofrecen un grupo de atributos específicos de este parasitoide como son la respuesta numérica y funcional, potencial individual y la eficiencia de búsqueda. *Tamarixia radiata* mostró ser un parasitoide de alta especificidad, hallado en los agroecosistemas citrícolas y zonas urbanas. Se demostró que bajo las condiciones de Cuba el parasitoide *T. radiata* funciona como un eficaz agente de control biológico de *D. citri* al desarrollar por primera vez un modelo matemático que describe las interacciones de *D. citri*, con sus enemigos naturales. Los resultados obtenidos permitieron contar con una metodología novedosa para Cuba, basada en el empleo de recursos y alternativas locales, lo que facilita su implementación en los Centros Reproductores de Entomófagos. Aprobada por la Comisión Nacional de Manejo de plagas (CNMP), siendo propuesta su inclusión dentro de la estrategia de manejo del HLB en Cuba.

Comunicación Corta

En los últimos años, la citricultura cubana ha sufrido una seria afectación por la introducción y establecimiento de *Diaphorina citri*, insecto capaz de provocar severas pérdidas sobre varias especies del género *Citrus*. Este psílido se caracteriza por ser un eficiente vector de la enfermedad conocida como “Huanglongbing”, “grenning” o “enverdecimiento” de los cítricos, considerada como la más letal y destructiva en el cultivo.

Hasta el momento, el uso de agentes de control biológico ha producido resultados promisorios en comparación con el uso de productos químicos para controlar esta especie. Se reconoce que el parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) es específico para el vector, posee una amplia distribución y que su efectividad (entre 30,72% y 97,26% en condiciones naturales) le permite controlar de forma natural a *D. citri* (Aleman et al., 2007). Para el desempeño exitoso de *T. radiata* como agente de control biológico es necesario conocer el comportamiento de las interacciones que se

establecen entre este fitófago y su plaga diana; empeño en el cual las herramientas biomatemáticas son de gran importancia, aunque comúnmente no son aplicadas con estos fines en las investigaciones en la rama de la Sanidad Vegetal en nuestro país. Estas bases científicas son vitales para el desarrollo de una metodología de cría eficiente, sencilla y ventajosa desde el punto de vista económico, según las condiciones existentes en Cuba y el correcto manejo en la liberación del agente de control biológico.

El presente estudio tuvo como objetivo principal establecer la potencialidad de *T. radiata* como agente de control biológico de *Diaphorina citri* (vector del agente causal de Huanglongbing) bajo las condiciones de Cuba y ofrecer una metodología para su reproducción masiva. Biología de *Diaphorina citri* sobre *Murraya paniculata* y de *Tamarixia radiata* sobre *Diaphorina citri* en condiciones controladas.

Se demuestra que *D. citri* se puede desarrollar favorablemente sobre muralla por lo que además de constituir un reservorio del insecto, puede ser el hospedante alternativo a proponer si se pretende garantizar la reproducción masiva del parasitoide (Baños et al., 2012). Los valores de los parámetros biológicos de *T. radiata* confirman que un aumento en las temperaturas conlleva una disminución en la duración de los parámetros biológicos lo que conlleva al aumento de las poblaciones del insecto (un ciclo de desarrollo corto) y por otra parte se evidenció que para lograr una mayor sobrevivencia del parasitoide es necesario contar con una fuente suplementaria de alimento. Todos estos resultados constituyen los primeros que se informan en Cuba. Los resultados de las tablas de vida permitieron conocer que *T. radiata* posee una mayor capacidad de multiplicación que el fitófago en un menor tiempo, pues el número de hembras que se agrega a la población por día es superior, por lo que podría considerarse como un importante agente de control biológico de *D. citri* dentro de un programa de manejo integrado (Baños et al., 2013). La respuesta funcional de las hembras de *T. radiata* reflejó un incremento en la actividad parasítica hasta alcanzar un valor alrededor de los 35 individuos parasitados en 24 horas, momento en que se produce la estabilidad en el parasitoidismo de la especie. El número de descendientes por hembra de *T. radiata* se incrementó con el aumento de la densidad del hospedante hasta un nivel de 45 individuos, a partir de cual se produce un descenso en el número de parasitoides emergidos. La tasa de ataque mostró los mayores valores, cuando se liberó una sola pareja del parasitoide en relación con el resto de las densidades en estudio, lo que sugiere que se produce una interferencia a partir de la liberación de cinco parejas del parasitoide para una misma densidad y por tanto a un mayor gasto al liberar más individuos para obtener un mismo resultado (Baños et al., 2014 In press). Estos elementos se deben tener en cuenta a la hora de determinar la tasa de liberación óptima para esta especie. Teniendo en cuenta estos estudios se puede concluir que están presentes los principales elementos que conllevan a la elección de *T. radiata* como un agente de control biológico promisorio.

Estos estudios biológicos y de tablas de vida de la plaga y el parasitoide son los primeros que se obtienen en el país para estos insectos.

Parámetros poblacionales de *D. citri* y *T. radiata* en condiciones naturales.

El parasitoide *T. radiata* se mueve siguiendo una trayectoria similar a la de su hospedante, durante el 2007 y el 2008. Mientras que el 2009, se produjo un incremento en la población de ninfas de *D. citri*, con picos más elevados, los cuales alcanzaron

valores promedios de hasta 183 individuos por brote. Igual comportamiento manifestó el parasitoide *T. radiata*, el cual sigue la misma trayectoria de las poblaciones de *D. citri*, con los idénticos picos poblacionales, pero con valores medios menores a 11,5 individuos por brote. Los modelos logísticos mostraron que la capacidad máxima de incremento (K) de *D. citri* fue de 147 individuos lo que equivale a 3,67 individuos por brote lo que supera a la encontrada durante los muestreos, con una media poblacional (μ) de 110,9 individuos con una tasa neta de crecimiento instantánea $rd=0,06$. Para *T. radiata*, el modelo mostró que la capacidad máxima de incremento (K) fue de 98,25 lo que se corresponde con 2,45 individuos/brote, valor que se encuentra por encima de lo observado durante los muestreos, con una media poblacional (μ) de 53,4 individuos y una $rd=0,01$.

Por su parte, el modelo generalizado de Southwood y Way (1970) mostró que el primer punto R que indicó la necesidad de aplicación de alguna acción de control de existir 49 individuos totales por cada 5 brotes muestreados para evitar el incremento acelerado de las poblaciones *D. citri*. Este modelo matemático se utiliza por primera vez a nivel mundial para evaluar los momentos de aplicación de un parasitoide para el manejo de su hospedante.

Se desarrolló un modelo matemático que describe las interacciones de *Diaphorina citri*, con sus enemigos naturales (Miranda et. al., 2008). Resulta novedosa la inclusión del cultivo en el modelo, expresando las afectaciones en su dinámica por la acción de la plaga. El modelo formulado consta de 11 ecuaciones diferenciales y 29 parámetros. Al no poderse estimar todos los parámetros experimentalmente, fue necesario reducir el modelo teniendo en cuenta la acción del principal enemigo natural de la especie. Se estableció un modelo de 3 ecuaciones diferenciales que simula una relación tri-trófica (Miranda et. al., 2010) y puede ser extrapolado a otras poblaciones. El modelo fue validado en el sistema *D. citri*-*T. radiata* sobre *M. paniculata*; algunos parámetros fueron tomados de la literatura y otros estimados experimentalmente (Miranda et. al., 2011; Baños et. al, 2012), demostrando que altas densidades del parasitoide logran un equilibrio ecológico y este debe ser liberado para, de conjunto con la medidas de manejo, lograr una disminución de las poblaciones de *D. citri*.

Al incorporar la dinámica del cultivo al modelo de interacción de poblaciones, el nivel de predicción es marcadamente superior al que se logra con los modelos hospedante – parásito propuestos por Thomson, 1922, Nicholson y Bailey, 1935 y Rogers, 1972 (Baños et. al., 2013), lo que revela un nuevo aporte para la teoría de modelación matemática.

Reproducción masiva del enemigo natural

Los resultados del efecto de los estimulantes sobre *M. paniculata* mostraron que el uso de Fitomas-E® a las concentraciones 0,5 ml.l⁻¹ induce a una mayor brotación en las posturas. Es importante resaltar que el ácido indolbutírico empleado a una concentración de 1ml.l⁻¹ tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento y número de hojas de *M. paniculata* (Baños et al., 2009a).

Todo esto resulta muy conveniente para la implementación de la cría artificial de *D. citri*, la cual deposita sus huevos en los brotes más jóvenes de esta planta. Su porte de arbusto facilita el trabajo y el manejo de los huevos y ninfas del insecto, que serán usadas como sustrato para la ovoposición y sobrevivencia de *T. radiata* en condiciones de cría artificial.

Por otra parte, el empleo de estos bioestimulantes se adelanta la brotación, de manera que a los 7 días ya pueden ser utilizados para la cría de *D. citri*. De lo contrario (sin aplicación) hay que esperar el doble del tiempo para poder usarlas (Baños et al., 2009b). A partir de los datos obtenidos en estos experimentos, el promedio de brotes en los mejores tratamientos y teniendo en cuenta lo referido en el programa PAC dSENASICA México (2006) se propusieron las especificaciones de calidad para el sustrato.

Se determinaron los estándares para las especificaciones de calidad de *D. citri* a partir de los resultados del campo. Las poblaciones totales de *D. citri* en el laboratorio oscilaron entre 2900 y 3000 individuos por mes, de los cuales el 95% aproximadamente de los estadios de 3ro a 5to se destinaban para el próximo nivel trófico (cría del parasitoide) y el otro 5% a la cría del fitófago para la obtención de nuevos hospedantes. A partir de los resultados obtenidos en las crías de laboratorio se logró establecer un ciclo semanal de infestación del material vegetal con 550 –570 ninfas de 3ro a 5to instar de *D. citri* por jaula, lo que garantizó un suministro estable de hospedante para *T. radiata*. Los estados preferidos del parasitoide, se obtuvieron a partir de los 10 días de la fecha de infestación del sustrato.

A partir de los resultados obtenidos de los individuos de campo se establecieron los estándares para la cría en condiciones controladas de *T. radiata*. Los parasitoides adultos comenzaron a emerger a partir de los 8 días, la producción se logró satisfactoriamente a partir de octavo día, utilizando jaulas con régimen alterno de luz (14:10) y a partir de la inoculación en el 3ro y 5to estadio. Es importante resaltar que el itinerario de trabajo utilizado y el chequeo periódico impidió la contaminación cruzada entre las distintas áreas de cría, lo que demostró la validez del mismo. La descendencia por jaula osciló entre los 350 y los 500 parasitoides en cada lote.

Se determinaron como especificaciones de calidad para la cría bajo condiciones controladas el cociente sexual, talla de los adultos, % de deformaciones, sobrevivencia, parasitoidismo, emergencia y rendimiento. El promedio de adultos de *T. radiata* en los 10 lotes evaluados fue de 340 individuos valor muy superior a la cantidad de individuos encontrados en las poblaciones natural (149 individuos), lo cual evidencia la eficiencia en el proceso de cría bajo las condiciones impuestas.

Los límites de control obtenidos en los indicadores evaluados en este trabajo, tienen una gran importancia práctica pues permitirán ir adecuando las condiciones y cualidades de la cría. Con los resultados obtenidos y teniendo en cuenta el diagrama de flujo del procedimiento de cría, se elaboró una Metodología para la reproducción masiva de la especie *T. radiata* registrada en el depósito legal facultativo de obras protegidas (**CENDA No Registro 2526-2009**).

La metodología de cría obtenida contiene las especificaciones de calidad así como los puntos de control de procesos y puede ser adoptado por los centros de reproducción de entomófagos, lo que hace que se diversifique la producción de enemigos naturales en el país y contribuye al uso de tecnologías sanas para el ambiente.

Referencias

- [1] Miranda, I.; Baños, H.; Martínez, M.A. y Alemán, J. (2008). Modelo teórico de la interacción de *Diaphorina citri* kuwayana (Hemiptera: psyllidae) con sus enemigos naturales. Rev. Protección Veg. 23(2): 126-130.

- [2] Miranda Ileana, Baños Heyker and María de los Ángeles Martínez. Dynamical system and polynomial regression to estimate host-parasitoid relationship. Journal of Applied Mathematics. Volumen 2010, Article ID 8510337, 10 pages.
- [3] Miranda Ileana, Baños Heyker, Yadira Pérez Aranda y María de los Ángeles Martínez. Patrón especial y parámetros de crecimiento de *Diaphorina citri* Kuwayama y su parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston sobre *Murraya paniculata* L. (Jack). Rev. Protección Veg. Vol. 26 No. 2 (2011):100-104.
- [4] Baños Heyker L., J. Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, Moraima Suris, Ileana Miranda and H. Rodríguez. Ciclo y tablas de vida horizontal de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) sobre *Murraya paniculata* L. (Jack). Rev. Protección Veg. Vol. 27 No. 2 (2012):95-101.
- [5] Baños Díaz Heyker L., Ileana Miranda y María de los A. Martínez. Biología y tabla de vida de *Tamarixia radiata* Waterston bajo condiciones controladas. Rev. Protección Veg. Vol. 28 No. 2 (2013): 120-126
- [6] Heyker Baños; Ileana Miranda; María de los Ángeles Martínez. Modelling the host – parasitoid interaction in the system *Diaphorina citri*- *Tamarixia radiata* on *Murraya paniculata*. International J. of Math. Sci&Engg. Appls (IJMSEA).ISSN: 0973-9424, Vol. 7 No.1 (January, 2013), pp.209-222.
- [7] J. Alemán, Heyker L. Baños and Jennifer Ravelo. *Diaphorina citri* and the Huanglongbing Disease: a destructive combination for the citric production. Rev. Protección Veg. Vol. 22 No. 3 (2007):154-165.
- [8] Baños Heyker; Ileana Miranda; María de los Ángeles Martínez, Adayakni Sánchez, Reynaldo Chico y Susana Ramirez. Respuesta numérica y funcional, eficiencia de búsqueda y efecto de interferencia de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae). Entomotropica.2014. *In press*.
- [9] Baños Heyker L., J. Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, Moraima Suris, Ileana Miranda y H. Rodríguez. Efecto de bioestimulantes sobre la germinación y el crecimiento de *Murraya paniculata* L. (Jack). Rev. Cultivos Tropicales, 2009, vol. 30, no. 1, p.83-86.
- [10] Baños Heyker L., J. Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, Moraima Suris, Ileana Miranda y H. Rodríguez. Evaluación del efecto de bioestimulantes sobre la brotación de *Murraya paniculata* L. (Jack) antes y después de poda. Rev. Cultivos Tropicales, 2009, vol. 30, no. 3.

La novedad e impacto científico de los resultados

1. Por primera vez se realiza un grupo de estudios con un enfoque integral del vector de Huanglongbing (*D. citri*) y el parasitoide *T. radiata*, en la búsqueda de respuestas basadas en resultados científicos relacionados con los parámetros biológicos y la construcción de tablas de vida, los que permitieron evaluar las características intrínsecas de la plaga y su principal enemigo natural. Además se ofrecen por primera vez en el mundo, la respuesta

numérica y funcional, el potencial individual y la eficiencia de búsqueda de *T. radiata*, atributos que lo ratifican como un Agente de Control Biológico eficaz de *D. citri* bajo las condiciones de Cuba. Estos estudios culminaron con una metodología para la reproducción masiva del parasitoide completamente novedosa para Cuba.

2. El empleo de herramientas matemáticas para el estudio de la interacción hospedante – parasitoide y la inclusión del cultivo en este tipo de sistema, así como la implementación de modelos logísticos para la determinación del momento óptimo de aplicación de *medidas de control*.
3. La introducción del parasitoide *T. radiata* control biológico de *D. citri* dentro de la estrategia de manejo del HLB en Cuba, será el mayor aporte desde el punto de vista práctico.

Impacto económico y social

- ✓ Con la implementación de la tecnología de cría del parasitoide, se logra incrementar sus poblaciones para la liberación en áreas de fomento de los cítricos y donde los niveles de parasitoidismo son bajos. Con ello se producirá un ahorro desde el punto de vista económico por concepto de disminución del uso de insecticidas, lo que además contribuye a la conservación de los enemigos naturales en el agroecosistema.
- ✓ Por otra parte desde el punto de vista social se ofrece una tecnología limpia, amigable con el medio ambiente que ayuda a preservar la salud humana.

Publicaciones

- ✓ Heyker L. Baños, J. Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, Moraima Suris, Ileana Miranda y H. Rodríguez. Efecto de bioestimulantes sobre la germinación y el crecimiento de *Murraya paniculata* L. (Jack). *Rev. Cultivos Tropicales*, 2009, vol. 30, no. 1, p.83-86.
- ✓ Heyker L. Baños, J. Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, Moraima Suris, Ileana Miranda y H. Rodríguez. Evaluación del efecto de bioestimulantes sobre la brotación de *Murraya paniculata* L. (Jack) antes y después de poda. *Rev. Cultivos Tropicales*, 2009, vol. 30, no. 3.
- ✓ Heyker L. Baños, J. Alemán, María Martínez, Jennifer Ravelo, Moraima Suris, Ileana Miranda and H. Rodríguez. Ciclo y tablas de vida horizontal de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) sobre *Murraya paniculata* L. (Jack). *Rev. Protección Veg.* Vol. 27 No. 2 (2012):95-101.
- ✓ Heyker Baños; Ileana Miranda; María de los Ángeles Martínez. Modelling the host – parasitoid interaction in the system *Diaphorina citri- Tamarixia radiata* on *Murraya paniculata*. *International J. of Math. Sci&Engg. Appls (IJMSEA)*.ISSN: 0973-9424, Vol. 7 No.1 (January, 2013), pp.209-222.
- ✓ Heyker L. Baños Díaz, Ileana Miranda y María de los A. Martínez. Biología y tabla de vida de *Tamarixia radiata* Waterston bajo condiciones controladas. *Rev. Protección Veg.* Vol. 28 No. 2 (2013): 120-126
- ✓ Heyker Baños; Ileana Miranda; María de los Ángeles Martínez, Adayakni Sánchez, Reynaldo Chico y Susana Ramirez. Respuesta numérica y funcional, eficiencia de búsqueda y efecto de interferencia de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae). *Entomotropica*.2014. Aceptada

- ✓ Miranda Ileana, Baños Heyker, María de los Ángeles Martínez and J. Alemán. Theoretical model of the interaction of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) with their natural enemies. Rev. Protección Veg. Vol. 23 No. 2 (2008):126-130.
- ✓ Miranda Ileana, Baños Heyker and María de los Ángeles Martínez. Dynamical system and polynomial regression to estimate host-parasitoid relationship. Journal of Applied Mathematics. Volumen 2010, Article ID 8510337, 10 pages.
- ✓ Miranda Ileana, Baños Heyker, Yadira Pérez Aranda y María de los Ángeles Martínez. Patrón especial y parámetros de crecimiento de *Diaphorina citri* Kuwayama y su parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston sobre *Murraya paniculata* L. (Jack). Rev. Protección Veg. Vol. 26 No. 2 (2011):100-104.