



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Dpto. de Ecosistemas Agroforestales

Estudio de aspectos de la ecología del pseudocóccido  
*Paracoccus burnerae* (Hemiptera:Pseudococcidae) y su  
problemática en el cultivo de cítricos en España.

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Sanidad y Producción Vegetal

AUTOR/A: Sesé Fornés, Josep

Tutor/a: Soto Sánchez, Antonia Isabel

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE  
VALÈNCIA

Dpto. de Ecosistemas Agroforestales

**Estudio de aspectos de la ecología del  
pseudocóccido *Paracoccus burnerae*  
(Hemiptera:Pseudococcidae) y su  
problemática en el cultivo de cítricos en  
España.**

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Sanidad y Producción  
Vegetal

AUTOR/A: Sesé Fornés, Josep

Tutor/a: Soto Sánchez, Antonia Isabel

CURSO ACADÉMICO:  
2022/2023

Valencia, septiembre 2023

Estudio de aspectos de la ecología del pseudocóccido *Paracoccus burnerae* (Hemiptera:Pseudococcidae) y su problemática en el cultivo de cítricos en España.

Josep Sesé Fornés

Tutora: Antonia Isabel Soto Sánchez

Valencia, septiembre 2023

## **RESUMEN**

*Paracoccus burnerae* Brain (Hemiptera:Pseudococcidae) es un pseudocóccido descrito como insecto plaga en el cultivo de cítricos cuya presencia en España se ha detectado recientemente. Se detectó durante la década anterior en zonas de Andalucía y Murcia, aumentando su distribución en los últimos años hacia zonas del norte de la provincia de Alicante (Comunidad Valenciana) y siendo sus poblaciones cada vez más abundantes en los campos de cítricos. Produce importantes deformaciones en hojas con forma de pinzamiento y puede producir deformaciones en los frutos cuando su densidad en campo es elevada. Debido al gran desconocimiento existente sobre la ecología de este pseudocóccido, el objetivo de este trabajo es aportar información sobre algunos aspectos de su comportamiento para así mejorar las estrategias de control integrado de la plaga.

Se ha realizado un estudio comparativo de algunos caracteres físicos y morfológicos de *P. burnerae* respecto a otros pseudocóccidos de importancia en cítricos para permitir su separación mediante observaciones macroscópicas. También se han descrito los síntomas que ocasionan estos pseudocóccidos para permitir su identificación en campo. Se ha realizado un estudio para caracterizar el momento de aparición de los síntomas en las hojas y conocer la capacidad del pseudocóccido para deformarlas en función de su tamaño alcanzado cuando son infestadas por el insecto. Mediante la recogida de muestras en diversas parcelas de cítricos de la localidad de Pego (Alicante) se ha realizado un estudio de la dinámica y la estructura poblacional de *P. burnerae* con el objetivo de conocer su comportamiento en campo. Con respecto a las estrategias de control de la plaga, se ha testado la capacidad de los parasitoides *Coccidoxenoides perminutus* y *Anagyrus vladimiri* para controlar las poblaciones de *P. burnerae*.

Existen diversas características relativas a la forma y el color del cuerpo y a los filamentos laterales y anales que permiten una clara diferenciación de *P. burnerae* respecto a otros pseudocóccidos plaga en cítricos. También se han establecido claras diferencias entre estos pseudocóccidos según los síntomas que ocasionan sobre las hojas y los frutos de los cítricos. *P. burnerae* es capaz de deformar las hojas cuando éstas tienen longitudes menores a 31 mm. Según los estudios realizados en campo, se establece que *P. burnerae* es capaz de completar varias generaciones al año, siendo sus poblaciones más abundantes en primavera, la primera mitad del verano y durante la brotación de otoño. Atendiendo a su control biológico, los parasitoides *C. perminutus* y *A. vladimiri* no resultan adecuados para regular las poblaciones de *P. burnerae*.

Palabras clave: *Paracoccus burnerae*, pseudocóccidos, cítricos, daños, dinámica y estructura poblacional, control biológico.

## **ABSTRACT**

*Paracoccus burnerae* Brain (Hemiptera:Pseudococcidae) is a pseudococcid described as a pest insect in citrus cultivation whose presence in Spain has recently been detected. It was detected during the previous decade in areas of Andalusia and Murcia, increasing its distribution in recent years towards areas in the north of the province of Alicante (Comunidad Valenciana) and its populations are becoming increasingly abundant in citrus groves. It produces important deformations in leaves and can produce deformations in fruit when its density in the field is high. Due to the lack of knowledge on the ecology of this pseudococcid, the aim of this work is to provide information on some aspects of its behaviour in order to improve integrated pest control strategies.

A comparative study of some physical and morphological characters of *P. burnerae* against other important pseudococcids in citrus has been carried out to allow their separation by macroscopic observations. The symptoms caused by these pseudococcids have also been described to allow their identification in the field. A study was carried out to characterise the time of appearance of the symptoms on the leaves and to determine the ability of the pseudococcid to deform them according to their size when they are infested by the insect. By collecting samples from several citrus fields in the town of Pego, a study of the population dynamics and structure of *P. burnerae* was carried out in order to find out how it behaves in the field. With regard to pest control strategies, the capacity of the parasitoids *Coccidoxenoides perminutus* and *Anagyrus vladimiri* to control *P. burnerae* populations was tested.

There are several characteristics relating to body shape and colour and lateral and anal filaments that allow a clear differentiation of *P. burnerae* from other pseudococcids pests of citrus. Clear differences have also been established according to the symptoms they cause on citrus leaves and fruits. *P. burnerae* is capable of deforming leaves when they are less than 31 mm long. According to field studies, *P. burnerae* is capable of completing several generations per year, with populations being most abundant in spring, the first half of summer and during autumn budbreak. In terms of biological control, the parasitoids *C. perminutus* and *A. vladimiri* are not suitable for regulating *P. burnerae* populations.

Keywords: *Paracoccus burnerae*, pseudococcids, citrus, damage, population dynamics and structure, biological control.

# ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1. Familia Pseudococcidae .....	1
1.1. Morfología.....	1
1.2. Biología.....	1
1.3. Daños.....	3
1.4. Importancia económica.....	3
1.5. Rango de hospedantes .....	3
1.6. Distribución en la planta .....	4
1.7. Pseudocóccidos en el cultivo de cítricos .....	5
2. Género <i>Paracoccus</i> .....	7
3. <i>Paracoccus burnerae</i> .....	8
3.1. Morfología.....	8
3.2. Biología.....	9
3.3. Distribución e importancia económica .....	10
3.4. Rango de hospedantes .....	11
3.5. Daños .....	11
<b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
1. Cría en laboratorio de <i>P. burnerae</i> para el desarrollo de ensayos en laboratorio.....	13
2. Metodología de diferenciación de especies.....	13
3. Diseño y análisis del ensayo sobre caracterización de síntomas en hojas.....	14
3.1. Diseño del experimento .....	14
3.2. Análisis de datos.....	15
4. Estudio de las poblaciones de <i>P. burnerae</i> en campo.....	15
4.1. Parcelas de muestreo .....	15
4.2. Método de muestreo .....	16
4.3. Análisis de datos.....	17
5. Diseño y análisis del ensayo sobre eficacia de los parasitoides <i>C. perminutus</i> y <i>A. vladimiri</i> para el control de <i>P. burnerae</i> .....	17
5.1. Cría de los parasitoides .....	18
5.2. Diseño del experimento .....	18
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	20

1. Diferenciación de <i>P. burnerae</i> respecto a otros pseudocóccidos de importancia en cítricos .....	20
1.1. Caracteres morfológicos y físicos del cuerpo de <i>P. burnerae</i> .....	20
1.2. Síntomas en campo .....	22
2. Caracterización de síntomas en hojas en laboratorio .....	24
3. Estudio de las poblaciones de <i>P. burnerae</i> .....	26
3.1. Estudio de la dinámica poblacional de <i>P. burnerae</i> .....	26
3.2. Estudio de la estructura poblacional de <i>P. burnerae</i> .....	29
4. Estudio de la eficacia de algunos parasitoides para el control de <i>P. burnerae</i> .....	32
4.1. Estudio de la eficacia del parasitoide <i>C. perminutus</i> para el control de <i>P. burnerae</i> 33	
4.2. Estudio de la eficacia del parasitoide <i>A. vladimiri</i> para el control de <i>P. burnerae</i> ..	33
<b>CONCLUSIONES</b> .....	34
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	35

# **INTRODUCCIÓN**

## **1. Familia Pseudococcidae**

Comúnmente denominados cotonets, la familia Pseudococcidae agrupa más de 2000 especies incluidas en 268 géneros y representa la segunda familia más abundante dentro de la superfamilia Coccoidea, únicamente superada por la familia Diaspididae (Hardy et al., 2008; Williams et al., 2011; García-Morales et al., 2016).

Se encuentran distribuidos a lo largo de todo el mundo exceptuando las regiones polares, siendo más abundantes en las regiones tropicales y subtropicales (Ben-Dov, 1994). La región paleártica tiene el mayor número de especies descritas del mundo, seguida por la región indomalaya (García-Morales et al., 2016). En España, actualmente hay registradas 46 especies de pseudocócidos (García-Morales et al., 2016). Muchas de estas especies son consideradas plagas, causando daños significativos tanto a cultivos como a plantas ornamentales (Ben-Dov, 1994).

### **1.1. Morfología**

Las hembras adultas presentan un cuerpo blando, normalmente cubierto con una capa de cera usualmente blanca que secretan ellas mismas y que se extiende por los márgenes del cuerpo en forma de pequeños filamentos, siendo los de la parte posterior del cuerpo más largos en la mayoría de las especies (Kosztarab y Kozár, 1988; Gullan y Martin, 2009). Tienen un tamaño pequeño, encontrando especies con individuos por debajo de 1 mm, así como otras en que pueden llegar a medir hasta 10 mm (McKenzie, 1967). Bajo la capa de cera se encuentra la epidermis, donde se observa la verdadera coloración del cuerpo, la cual varía en función de la especie, así como la forma, pudiendo ser oval, alargada o casi circular. Son ápteras y neoténicas, las hembras sexualmente maduras conservan caracteres propios de los estadios inmaduros. En la parte dorsal puede notarse la segmentación del cuerpo, no obstante, la cabeza está fusionada con el tórax, no diferenciándose los tagmas cabeza, tórax y abdomen típicos de los insectos. Disponen de un aparato bucal picador-chupador que está ubicado entre las coxas del primer par de patas. En la mayor parte de las especies se observan claramente los tres pares de patas y las dos antenas en la parte anterior del cuerpo (Castillo y Bellotti, 1990; Ramos, 2003).

Los pseudocócidos presentan un acusado dimorfismo sexual. Los machos presentan una cabeza, tórax y abdomen claramente diferenciados (Franco et al., 2000). Además, la mayor parte de las especies presentan un par de alas membranosas. Tienen un tamaño significativamente inferior al de las hembras adultas (1-2 mm). Los machos no se alimentan, por lo que no tienen aparato bucal o lo presentan atrofiado.

### **1.2. Biología**

Desde la fase de huevo, las hembras pasan por 3 estadios ninfales antes de llegar a la madurez sexual. Todos estos estadios tienen una morfología similar, notándose un aumento progresivo del tamaño del cuerpo (Beltrà y Soto, 2012). Los machos pasan por dos estadios ninfales iniciales

idénticos a los de las hembras. No obstante, los machos tienen un desarrollo holometábolo, segregando una pupa cerosa después de completar el segundo estadio ninfal para formar un pupario donde se desarrollarán los dos últimos estadios inmaduros, la pre-pupa y la pupa. Finalmente, emergerá el macho adulto completamente formado con cabeza, tórax y abdomen diferenciados (Figura 1). Mientras que las hembras adultas pueden vivir semanas, los machos únicamente viven entre 1 y 7 días debido a que no son capaces de alimentarse (Franco et al., 2000).

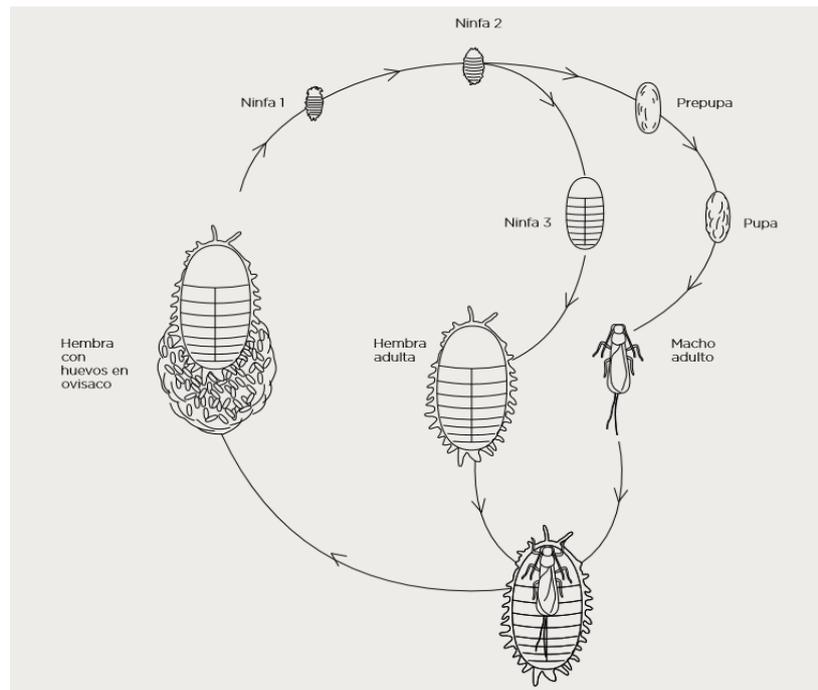


Figura 1. Ciclo de vida de un pseudococcido. (Beltrà y Soto, 2012).

En cuanto a la reproducción, en la mayor parte de las especies de pseudococcidos es de tipo sexual (Gullan y Kosztarab, 1997; Gullan y Martin, 2009). No obstante, también se conocen especies que son capaces de reproducirse mediante partenogénesis en ausencia de machos (Lloyd, 1952). La mayor parte de las especies son ovíparas, donde las hembras disponen los huevos en el interior de un ovisaco formado por filamentos algodonosos que secretan durante la puesta. El ovisaco puede estar en distintas posiciones respecto al cuerpo de la hembra: bajo del abdomen, cubriendo completamente el cuerpo, cubriendo parcialmente el cuerpo o con forma tubular. No obstante, también hay especies como *Pseudococcus longispinus* Targioni-Tozzetti, donde los huevos eclosionan en el interior del cuerpo de la hembra y emergen las ninfas directamente al exterior (ovoviviparidad).

La evolución de las poblaciones a lo largo del ciclo de cultivo depende en gran medida de las condiciones ambientales y de la especie de pseudococcido (Franco et al., 2000). En especial, son la temperatura, la humedad relativa y el fotoperíodo los factores ambientales que tienen una mayor incidencia en la biología de los pseudococcidos. En la zona del Mediterráneo, los picos poblacionales suelen darse en primavera y principios de verano (Beltrà y Soto, 2012).

### 1.3. Daños

Los pseudocóccidos producen diferentes tipos de daños dependiendo de la especie en cuestión y de la planta huésped que infestan. Disponen de un aparato bucal picador-chupador mediante el cual extraen nutrientes del floema o del parénquima de sus hospedantes. De este modo, entre los principales daños directos que provocan destaca un debilitamiento general de la planta, pudiendo llegar a provocar defoliación, pérdida de frutos o incluso la muerte de la planta en caso de altos niveles de infestación (Franco et al., 2000; Franco et al., 2009). También, mediante este tipo de alimentación fluidófaga producen una gran cantidad de melaza que favorece la proliferación de hongos saprófitos, comúnmente denominados negrilla, disminuyendo la eficiencia fotosintética de la planta y depreciando la calidad de los frutos en caso de acumularse encima de estos (Douglas, 2009; Franco et al., 2009). Algunas especies como *Maconellicoccus hirsutus* (Green) son capaces de producir importantes deformaciones en los órganos vegetales mediante la inyección de compuestos tóxicos a los tejidos vegetales (Vitullo et al., 2009). Además, determinados pseudocóccidos están descritos como vectores de virus, pudiendo disminuir la rentabilidad de los cultivos con densidades poblacionales bajas (Beltrà y Soto, 2012).

### 1.4. Importancia económica

Debido al aumento del transporte internacional que se ha dado en los últimos años, se ha producido un incremento significativo de la llegada de pseudocóccidos invasores a países tropicales y subtropicales (Kondo et al., 2008). Los cotonets, debido a su pequeño tamaño y a su capacidad de ocultarse y refugiarse en las zonas más protegidas de plantas, pasan frecuentemente las inspecciones cuarentenarias siendo capaces de asentarse en el país de llegada y constituir una plaga. Las situaciones más prolíficas para el asentamiento de especies invasoras se dan cuando éstas llegan a zonas donde no tienen enemigos naturales que puedan controlar sus poblaciones (Miller et al., 2002; Franco et al., 2009). Después de los áfidos, los pseudocóccidos representan el segundo grupo con más especies exóticas en el continente europeo, suponiendo una cuarta parte del total de especies de pseudocóccidos presentes en Europa (Pellizari y Germain, 2010). Por ejemplo, desde la década de los 90 han llegado a la zona mediterránea varias especies invasoras como *Phenacoccus peruvianus* Granara de Willink (Beltrà et al., 2010), *Phenacoccus solani* Férreos (Mazzeo et al., 1999), *Phenacoccus parvus* Morrison (Ben-Dov et al., 2005), *Phenacoccus defectus* Férreos (Mazzeo et al., 2014), *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) (Pellizari, 2005) o *Delottococcus aberiae* De Lotto (Beltrà et al., 2012).

En la zona del Mediterráneo ocasionan pérdidas económicas importantes en cultivos de árboles frutales como cítricos y viñas, cultivos hortícolas de solanáceas y cucurbitáceas, y en una amplia variedad de familias de plantas ornamentales (Ben-Dov, 2005; Beltrà y Soto, 2011; Moreno, 2011; Tena y García-Marí, 2011).

En España, especies como *Planococcus citri* (Risso), *D. aberiae*, *P. longispinus*, *P. viburni*, *Phenacoccus madeirensis*, *P. solani* o *P. peruvianus* son algunas de las más importantes a nivel económico (Beltrà y Soto, 2012)

### 1.5. Rango de hospedantes

Su rango de hospedantes es muy amplio, abarcando aproximadamente 250 familias en las que encontramos desde plantas herbáceas hasta árboles. No obstante, los pseudocóccidos muestran mayor preferencia a la hora de alimentarse por las plantas herbáceas frente a las leñosas (Ben-

Dov, 1994; Miller, 2005). Según García-Morales et al., 2016, las 3 familias de plantas más comúnmente hospedadas son: la familia Poaceae, que es la contiene un mayor número de especies (598 especies), seguida por las familias Asteraceae, con 331 especies; y la familia Fabaceae con 286 especies asociadas. Con menor importancia encontramos a las familias Rubiaceae (140 especies), Malvaceae (132 especies), Rosaceae (129 especies), Myrtaceae (126 especies), Lamiaceae (125 especies), Moraceae (112 especies) y Euphorbiaceae (105 especies) (Figura 2).

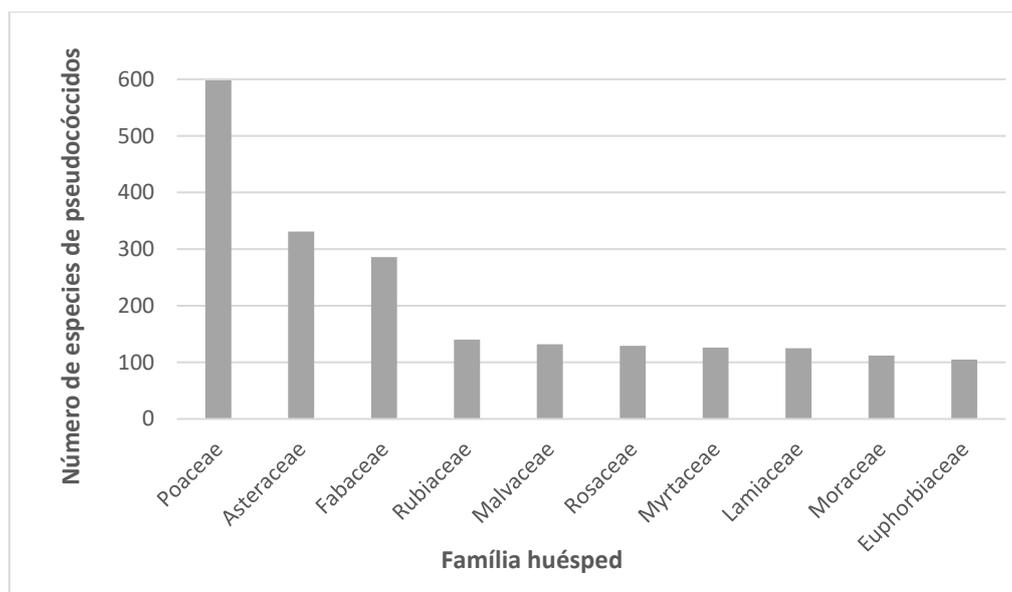


Figura 2. Principales familias huésped de pseudocóccidos. Datos obtenidos de García-Morales et al., 2016.

Dentro de la familia de los pseudocóccidos hay tanto especies polífagas como oligófagas. No obstante, son las especies más generalistas en cuanto a la alimentación las que tienen un mayor impacto económico en el sector agroalimentario debido a la facilidad que tienen para establecerse en nuevos cultivos (Franco et al., 2009). Especies como *P. citri*, *P. madeirensis* o *P. longispinus*, todas ellas importantes plagas, es sabido que son capaces de alimentarse de especies vegetales pertenecientes a más de 80 familias botánicas diferentes (Ben-Dov, 1994; García-Morales, 2016).

### 1.6. Distribución en la planta

Su ubicación en la planta puede ser diversa. Normalmente, cada especie tiene preferencia por unos determinados sustratos vegetales, siendo este un carácter importante a estudiar a la hora de facilitar la identificación en campo y diseñar el muestreo de un pseudocóccido. Un rasgo común en muchas de las especies de pseudocóccidos es que evitan las zonas más expuestas del vegetal, siendo más común encontrarlas en sustratos como hojas deformadas, el interior de la corteza del tronco, debajo del cáliz de los frutos, en brácteas o en las axilas de las hojas (Cox, 1987; McKenzie, 1967; Mani y Shivaraju, 2016).

Aunque estos insectos tengan tendencia a ocultarse en los sustratos mencionados anteriormente y quedarse inmóviles, hay que tener en cuenta que todos los estadios tienen

capacidad de desplazarse (Miller, 2005). Las ninfas de primer estadio son las que muestran una mayor movilidad, dispersando la población mientras buscan los sustratos vegetales que proporcionan una alimentación más rica en carbohidratos (Franco, 1994)

También se han descrito movimientos migratorios estacionales de las poblaciones hacia diferentes zonas de la planta huésped con el objetivo de invernar, ovipositar, alimentarse o mudar (Franco, 1994; Miller, 2005). Estos movimientos suelen darse en pseudocócidos asociados a especies vegetales leñosas (Franco et al., 2009).

### 1.7. Pseudocócidos en el cultivo de cítricos

La cuenca mediterránea es una de las principales zonas productoras de cítricos a nivel mundial, representando aproximadamente un 20% de la producción citrícola total (Urbaneja et al., 2020). Esta producción está principalmente destinada al consumo en fresco de la fruta. De este modo, se necesitan unos altos niveles de calidad a nivel cosmético que garanticen rendimientos económicos óptimos. Esto es especialmente importante con relación al mercado de exportación, que en el caso de España abarca más del 56% de la producción total. En este sentido, las plagas de pseudocócidos afectan tanto a la cantidad de producción como a la calidad de los frutos, por el que son un factor importante para la economía de todas las zonas productoras de cítricos del mediterráneo (Franco et al., 2004).

Actualmente, hay descritas 76 especies de pseudocócidos asociadas a cultivos de cítricos a nivel mundial (García-Morales et al., 2016). En la región mediterránea han sido 6 especies las que han sido tradicionalmente citadas (Bhimberg et al., 1999; Franco et al., 2000): *P. citri*, *Pseudococcus cryptus* Hempel, *P. longispinus*, *Pseudococcus calceolariae* (Maskell), *P. viburni* y *Nipaecoccus viridis* (Newstead). De estas especies, *P. citri* es la que constituye una plaga de mayor importancia en los cítricos del mediterráneo (Franco et al., 2004). El resto de las especies citadas tienen un menor impacto económico sobre el cultivo de cítricos, teniendo una distribución mucho más reducida y llegando a niveles poblacionales menores que los logrados por *P. citri* (Franco et al., 2004, García Marí, 2012).

Otro pseudocócido de introducción más reciente que constituye una plaga de gran importancia en cítricos es *D. aberiae*. Fue citado por primera vez en la Comunidad Valenciana, España, en el año 2009. Desde este año ha ido dispersándose por las zonas adyacentes (Beltrà et al., 2013; Soto et al., 2016). Actualmente es una de las plagas de cítricos más perjudiciales en España, mostrando preferencia por alimentarse de los frutos, causando importantes daños sobre estos, produciendo deformaciones y una reducción del tamaño del fruto en mandarinas (Martínez-Blay et al., 2018a; Beltrà et al., 2013).

Por último, *Paracoccus burnerae* Brain es un pseudocócido endémico de la región Afro-tropical que fue detectado en las Islas Canarias en noviembre de 2014 (Milek y Pellizzari, 2016). En la península ibérica se tiene constancia de su presencia desde la década de 2010 en parcelas de Andalucía, Murcia y más recientemente en la Comunidad Valenciana. Produce los daños típicos de los pseudocócidos: reducción del vigor de la planta y excreción de melaza sobre la planta. Además, produce deformaciones en forma de pinzamiento en hojas y en grandes densidades puede llegar a deformar los frutos.

### 1.7.1. Control de pseudocóccidos en el cultivo de cítricos

A la hora de establecer estrategias de control para mitigar el efecto de estas plagas es importante identificar la especie de pseudocóccido en cuestión. De este modo se podrán elegir las medidas de control más efectivas. Es común que en una parcela de cítricos encontremos más de una especie de pseudocóccido (Franco y Marotta, 1999). Esta asociación de especies tiene que ser considerada, especialmente cuando los daños ocasionados por el conjunto de las diferentes especies plaga superen el umbral económico de pérdidas (Franco et al., 2004)

Desde un punto de vista general, aunque el control químico ha sido una de las estrategias de manejo de poblaciones de pseudocóccidos más importantes, no deja de presentar una serie de inconvenientes. Debido a la tendencia de estos insectos a ocultarse en zonas protegidas de la planta y a la capa cerosa que cubre su cuerpo, los insecticidas de contacto aplicados en campo pueden no dar la eficacia deseada. Por otro lado, los productos sistémicos no son efectivos contra los machos, las hembras en oviposición y los huevos, puesto que estas formas no se alimentan (Beltrà y Soto, 2012). Otro inconveniente de los métodos químicos es la aparición de resistencias en las poblaciones debido a un uso excesivo de los insecticidas (Charles et al., 1993). También se debe tener en cuenta que muchos de estos insecticidas son altamente tóxicos tanto para enemigos naturales como para polinizadores pudiendo tener un efecto negativo sobre la fauna asociada creando un agrosistema más vulnerable ante el ataque de plagas (Campos y Martínez-Ferrer, 2008).

Debido a recientes legislaciones europeas, que limitan el uso de productos insecticidas convencionales con el fin de reducir los riesgos para la salud humana y el medio ambiente, está aumentando la importancia de técnicas de tipo cultural y especialmente las relacionadas con el control biológico. Así, los programas de Gestión Integrada de Plagas (GIP) son el modelo que seguir a la hora de establecer planes de manejo de plagas.

Las medidas culturales influyen tanto en el estado sanitario de la planta como en la ecología de los pseudocóccidos (Beltrà y Soto, 2012). Prácticas como una fertilización nitrogenada excesiva y una poda abundante pueden favorecer la actividad de los pseudocóccidos (Hogendorp et al., 2006). El estrés hídrico también facilita el establecimiento de las poblaciones de pseudocóccidos en los cultivos (Calatayud et al., 2002). Otro aspecto importante es el control de las poblaciones de hormigas, puesto que éstas establecen relaciones simbióticas con las poblaciones de cotonets y facilitan su establecimiento y dispersión.

Respecto al control biológico, los principales agentes utilizados para el control de las poblaciones de pseudocóccidos son los parasitoides, los depredadores y los hongos entomopatógenos (Franco et al., 2009). De estos, los parasitoides son el grupo más relevante (Figura 3 y 4).

Los parasitoides más importantes respecto al control de pseudocóccidos se encuentran dentro de la familia Encyrtidae, siendo los géneros *Acerophagus*, *Anagyrus*, *Leptomastodea* y *Leptomastix* los más importantes en la zona del Mediterráneo (Beltrà y Soto, 2012; Moore, 1988). Los parasitoides tienen una alta especificidad respecto a sus huéspedes, de forma que tienen un gran impacto en la dinámica poblacional de la plaga (Charles, 2011). Muchas plagas de pseudocóccidos invasores se han controlado mediante control biológico clásico, es decir, introduciendo los parasitoides que controlan las poblaciones en su área de origen. Los parasitoides de la familia Encyrtidae también se utilizan en el control biológico aumentativo. Por ejemplo, en España, son comunes las sueltas del parasitoide *Anagyrus vladimiri* Triapitsyn en campos de cítricos para controlar las poblaciones de *P. Citri* (Beltrà y Soto, 2012).



Figura 3. Parasitoide hembra de pseudocóccidos



Figura 4. Pseudocóccido parasitado y momificado.

Los depredadores también juegan un papel importante en el control de las poblaciones de pseudocóccidos (Franco et al., 2009; Mani y Shivaraju, 2016). En la mayor parte de los casos se trata de depredadores generalistas, capaces de sobrevivir en los campos de cultivo alimentándose de varias presas. Así, tienen un papel importante en el control durante las fases iniciales de crecimiento poblacional de la plaga (Beltrà y Soto, 2012). Insectos como las crisopas, las tijeretas, dípteros cecidómidos, míridos y coccinélidos son los principales depredadores de los pseudocóccidos (Mani y Shivaraju, 2016). Entre estos, los coccinélidos son considerados los depredadores más eficientes, destacando la especie *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant como la más utilizada en programas de control biológico (Kairo et al., 2000; Mani y Shivaraju, 2016).

Por último, el desarrollo de técnicas de control mediante feromonas, tanto para captura masiva como para confusión sexual, está estableciéndose como un método efectivo en algunos cultivos. Por ejemplo, en campos de viña de California, Israel o Italia, están dando resultados satisfactorios en el control de *Planococcus ficus* Signoret (Daane et al., 2006; Walton et al., 2006; Sharon et al., 2016).

## 2. Género *Paracoccus*

El género de pseudocóccidos *Paracoccus* está distribuido por todo el mundo, principalmente en áreas templadas y tropicales (Moghaddam y Esfandiari, 2014). Incluye 86 especies, distribuidas principalmente en las regiones de Australasia (37 especies), la región Afrotropical (23 especies) y la Neártica (18 especies). En menor medida se encuentran en la región Neotropical (8 especies) y en la Oriental (12 especies). En la región Paleártica únicamente encontramos 3 especies: *Paracoccus tuaregensis* (Balachowsky), *Paracoccus leucadendri* Mazzeo y Franco y *P. burnerae* (Brain) (Mazzeo et al., 2009, García-Morales et al., 2016).

Según Hardy et al., 2008, el género *Paracoccus* se diferencia en 3 grupos separados filogenéticamente. El grupo endémico de Australasia con *Paracoccus nothofagicola* Cox como especie representativa, el grupo procedente de la zona de América representado por las especies *Paracoccus marginatus* Williams y Granara de Willink y *Paracoccus juniperi* (Ehrhorn), y el grupo de las especies tipo *P. burnerae* (Brain) procedente de la región Afrotropical.

Entre las especies más relevantes desde el punto de vista económico se encuentra *P. marginatus*, distribuida por todo el mundo y representando una importante plaga en un amplio número de cultivos en la zona del Caribe y en las regiones Afrotropical, Neotropical, Oriental, Neártica y en la región de Australasia (García-Morales et al., 2016). Otra especie importante es *P. burnerae*, conocida por ser una importante plaga de cítricos en Sudáfrica (Hattingh, 1993) y estando en expansión en otras zonas citrícolas como España.

### 3. *Paracoccus burnerae*

*P. burnerae* es una especie endémica de la región Afro-tropical, típicamente ubicada en la zona sur y oriental de África (Johnson, 2010). Fue descrita por Brain (1915) en primer término, pero fue De Lotto (1967) quien la redescubrió otorgándole su nomenclatura actual. Durante la década de 1990 fue adquiriendo mayor importancia como plaga de cítricos en algunas regiones de Sudáfrica, desplazando a otros pseudocócidos típicamente dominantes como *P. citri* (Hattingh et al., 1998).

Este pseudocócido fue detectado por primera vez en territorio español en las Islas Canarias en el año 2014 (Milek y Pellizzari, 2016), aunque probablemente se introdujo algunos años antes. Actualmente ya está bien establecida en el archipiélago. Durante la década del 2010 también se detectó puntualmente en la península ibérica, concretamente en zonas de Andalucía y Murcia. En los últimos años se ha notado una presencia más permanente y generalizada en los campos de cítricos de estas zonas, extendiendo su distribución hacia zonas de la Vega Baja (Alicante) y moviéndose hacia zonas citrícolas del norte de la provincia de Alicante.

#### 3.1. Morfología

##### - Hembra adulta

Las hembras adultas tienen un cuerpo aplanado con forma oval. Está cubierto por una secreción cerosa de color blanco. Las medidas aproximadas del cuerpo son de 2,5 mm de largo y 1,5 mm de ancho incluyendo las secreciones cerosas que rodean el cuerpo. El cuerpo visto dorsalmente tiene una segmentación marcada. El color del cuerpo desprovisto de cera es marrón-vinoso, especialmente oscuro en el caso de las hembras adultas. El cuerpo está rodeado por 17 filamentos cerosos. Los filamentos anales son más largos que los laterales, midiendo aproximadamente una cuarta parte de la longitud del cuerpo. No obstante, los filamentos laterales, equidistantes entre sí, están bien formados y resultan vistosos, pudiendo medir una tercera parte de la longitud de los filamentos anales (Figura 5). Las hembras producen un ovisaco algodónoso donde depositan los huevos dispuestos en la parte posterior del cuerpo.

##### - Macho adulto

*P. burnerae*, como el resto de pseudocócidos, presenta un acusado dimorfismo sexual. Los machos adultos, visualizados bajo lupa binocular, tienen un aspecto similar al de los machos de otras especies de pseudocócidos como *P. citri*. El color del cuerpo es marrón-rojizo y mide

aproximadamente 1 mm de longitud. Disponen de una cabeza cordiforme donde se ubican los ojos compuestos y los ocelos. Las antenas tienen 10 artejos con forma cilíndrica. El protórax, triangular y convexo, precede al mesotórax, donde se insertan un par de alas hialinas recubiertas por pelos negros que se alargan en los bordes. En el mesotórax se insertan un par de balancines. El abdomen está compuesto por nueve segmentos y adquiere forma cilíndrica. En el último segmento se encuentran dos filamentos largos y robustos (Figura 6). En la parte posterior del cuerpo también se ubica el aparato genital con forma de quilla (Bodenheimer, 1951).



Figura 5. Hembra adulta de *Paracoccus burnerae*



Figura 6. Macho adulto de *Paracoccus burnerae*

### 3.2. Biología

El ciclo biológico de *P. burnerae* consta de dos estadios ninfales tras la emergencia del huevo en que machos y hembras no se diferencian. En el tercer estadio ninfal, los individuos que se convertirán en machos adultos entrarán en una fase de pupación de la que saldrá el individuo adulto alado. Las hembras pasarán por un tercer estadio ninfal en el que seguirán aumentando de tamaño hasta que se producirá la última muda que las convertirá en hembras adultas llegando a la madurez sexual. A pesar de que muchos pseudocóccidos se reproducen mediante partenogénesis, *P. burnerae* tiene reproducción sexual.

Como el resto de los insectos son animales ectotermos, hecho por el cual se reduce su tasa de desarrollo durante el invierno debido a las bajas temperaturas. En estos periodos, la población se refugia en zonas protegidas del árbol como el tronco u hojas deformadas (Hattingh et al., 1998). En época primaveral, con la subida de las temperaturas y la aparición de sustratos alimenticios de alta calidad (hojas jóvenes y frutos) la población aumenta su crecimiento completando varios ciclos generacionales cada año.

Atendiendo al estudio realizado por Johnson, 2010 sobre el desarrollo del pseudocóccido bajo 5 diferentes temperaturas (18, 20, 22, 25 y 27 °C), la temperatura óptima de desarrollo para *P. burnerae* es de 31,02 °C. Según el modelo utilizado en este estudio, la temperatura umbral de desarrollo se estima en 6,33 °C y la temperatura letal en 37,9 °C (Figura 7). Encontraron que el tiempo medio de generación disminuye con el aumento de la temperatura. También se apunta que la integral térmica de *P. burnerae* es de 666,7 grados-día. Con relación a la mortalidad

sufrida por los diferentes estadios de desarrollo, se nota un incremento de ésta con el incremento de la temperatura, encontrando que a la temperatura de 18 °C (la temperatura mínima probada en el ensayo) es en la que se registra una menor mortalidad. Atendiendo a los datos de mortalidad entre estadíos, son el primer y el segundo estadío los que muestran una menor supervivencia en todas las temperaturas ensayadas.

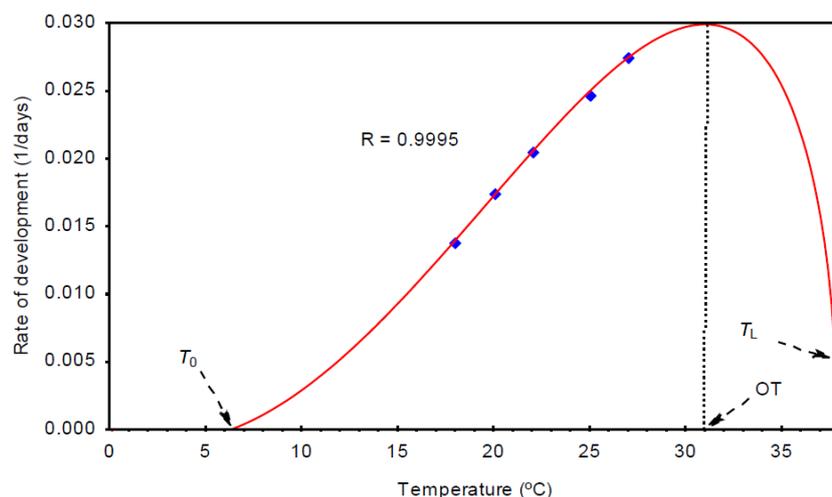


Figura 7. Tasa de desarrollo de *Paracoccus burnerae* a 5 temperaturas constantes OT= Temperatura óptima; TL=Temperatura letal y T0= Umbral mínimo de desarrollo. (Johnson, 2010).

Por lo que respecta a la fecundidad, en el trabajo de Johnson, 2010, se menciona que las hembras desarrolladas bajo una temperatura de 22 °C ponen una mayor cantidad de huevos que las desarrolladas bajo las demás temperaturas, aproximadamente 70 huevos por hembra. La bajada en la fecundidad experimentada tanto en temperaturas bajas como en temperaturas altas es justificada por una menor ingesta de alimentos. También se muestra que la tasa neta de reproducción y la tasa intrínseca de crecimiento fueron más elevadas a las temperaturas de 22 °C y 25 °C respectivamente.

### 3.3. Distribución e importancia económica

Según García-Morales et al., 2016, *P. burnerae* está presente en 22 países en todo el mundo: Angola, Australia, China, Comoras, Costa de Marfil, India, Irán, Isla Ascensión, Islas Canarias (España), Kenia, Madagascar, Namibia, Reunión (Francia), Isla Santa Helena (Reino Unido), Sudáfrica, Sri Lanka, Suazilandia, Tailandia, Vietnam, Yemen, Zambia y Zimbawe. En los últimos años esta especie ha aumentado significativamente su distribución, expandiéndose desde la región Afrotropical hasta las regiones Paleártica, Indomalaya y Australiana.

Desde su irrupción como plaga importante en la década de 1990 en Sudáfrica, esta especie ha emergido como una de las tres especies de pseudocóccidos más importantes en el cultivo de cítricos sudafricanos (García-Morales et al., 2016; Johnson y Giliomee, 2012). Está extendida por todas las zonas cítricas de Sudáfrica, habiendo estado citada como una de las plagas más importantes en los cítricos de algunas zonas del Cabo oriental y occidental de Sudáfrica (Moore

& Kirkman, 2005). En Estados Unidos, en el año 2002, *P. burnerae* fue incluida en la lista de pseudocóccidos invasores que constituyen una plaga o amenazan la agricultura del país (Miller et al., 2002). Puede ocasionar importantes pérdidas económicas en el cultivo de cítricos, depreciando significativamente la calidad de los frutos, especialmente en situaciones de altas densidades poblacionales (Johnson, 2010).

Actualmente, está caracterizada como una plaga de cuarentena (Wakgari & Giliomee 2003a), motivo por el cual su presencia en las zonas productoras y exportadoras de cítricos puede ocasionar grandes pérdidas económicas (Wakgari & Giliomee 2004).

### 3.4. Rango de hospedantes

Se trata de una especie polífaga. Respecto a su rango de hospedantes, Brain (1915) describió las especies vegetales *Viburnum sp.*, *Passiflora edulis*, *Nerium oleander*, *Gleditschia sp.*, *Sida rhombifolia* y *S. Longipes*. En Sudáfrica es especialmente común su presencia en cítricos y en adelfa (*N. oleander*), no obstante, se conoce que puede alimentarse de plantas de 34 géneros distribuidos en 20 familias (Milek y Pellizzari, 2016; Moghaddam, 2013; García-Morales et al., 2016).

### 3.5. Daños

*P. burnerae* produce los daños típicos de los pseudocóccidos expuestos en puntos anteriores de este trabajo, destacando una gran producción de melaza que facilita la proliferación de hongos en hojas y frutos, reduciendo la eficiencia fotosintética de la planta y disminuyendo la calidad de la cosecha. También producen un debilitamiento general de la planta debido a la extracción de savia a través de su alimentación, pudiendo provocar amarilleamiento de hojas y defoliación en caso de infestaciones graves.

Este pseudocóccido produce unos síntomas en hojas característicos, siendo capaz de deformar las hojas cuando éstas todavía están en una fase incipiente de su crecimiento. Estas deformaciones adquieren forma de pinzamientos, especialmente vistosos cuando las hojas aumentan de tamaño. En caso de altos niveles de infestación pueden deformar los frutos, provocando pequeñas hendiduras en la zona cercana al cáliz.

*P. burnerae* se ha descrito como vector del virus del rayado del plátano (BSV) (Muturi et al., 2013), siendo especialmente relevante para zonas con importantes extensiones de plataneras.

## **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

La falta de conocimiento sobre diversos aspectos de la ecología del pseudocóccido *P. burnerae*, unido a su reportada importancia económica en países productores de cítricos como Sudáfrica, hacen necesario mejorar la comprensión del comportamiento de este pseudocóccido en nuestros cítricos y establecer las bases que permitan mejorar las estrategias de control en la región mediterránea. Así, los objetivos de este trabajo son los siguientes:

1. Establecer las características básicas para su diferenciación específica, tanto a nivel morfológico y físico, como a nivel de los diferentes síntomas que ocasiona en el cultivo de los cítricos, respecto a otros pseudocóccidos mayoritarios en el cultivo de cítricos en España.
2. Caracterizar el momento de aparición de los síntomas en las hojas y la capacidad del pseudocóccido para deformarlas en función de su tamaño alcanzado cuando son infestadas por el insecto.
3. Conocer el comportamiento de las poblaciones de *P. burnerae* en parcelas de la Comunidad Valenciana mediante el estudio de su dinámica y estructura poblacional campo.
4. Estudiar la capacidad de los parasitoides *Coccidoxenoides perminutus* y *Anagyrus vladimiri* para controlar las poblaciones de *P. burnerae*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. Cría en laboratorio de *P. burnerae* para el desarrollo de ensayos en laboratorio**

Los individuos de *P. burnerae* utilizados para elaborar la cría en laboratorio fueron recogidos de las poblaciones presentes en algunos campos de cítricos de la localidad de Pego (Alicante). Los ovisacos recogidos de las muestras de campo se utilizaron para infestar inicialmente el sustrato de cría. Para asegurar que se trataba de la especie *P. burnerae*, se recolectaron únicamente ovisacos que provinieran de hembras en buen estado de salud y fácilmente identificables. Algunos de los individuos emergidos en la primera generación de la cría fueron identificados bajo lupa binocular cuando alcanzaron el estadio de hembra adulta para confirmar que la cría se mantenía limpia de otras especies de pseudocóccidos. Se realizaron revisiones semanales de la cría para evitar posibles contaminaciones. De manera periódica, se incorporaron a la cría nuevos ovisacos procedentes de hembras de *P. burnerae* recolectadas en campo.

Se utilizaron brotaciones de patatas como sustrato alimenticio. Para ello, las patatas se enterraron en un sustrato inerte en cubetas de plástico para facilitar la brotación. Las cubetas se perforaron en su base para el correcto drenaje del agua de riego, manteniendo un mínimo de humedad en el sustrato. Estas cubetas se mantuvieron aisladas en el interior de evolucionarios de plástico con malla fina para minimizar el riesgo de contaminación. La cría se mantuvo en cámaras aisladas en total oscuridad con una humedad del 60 - 65 % y una temperatura de 26 °C  $\pm$  2 °C.

De forma paralela, también se estableció una cría sobre plantones de cítricos. Estos plantones fueron mantenidos en un espacio luminoso para su correcto desarrollo, resultando ser un sustrato de alta calidad para la cría de este pseudocóccido. También se realizaron revisiones periódicas para eliminar otras plagas que pudieran infestar los plantones y contaminar la cría.

En los dos tipos de cría se realizaron revisiones periódicas para identificar posibles pupas y parasitoides adultos, eliminándolos en caso de su observación.

Las poblaciones obtenidas de estas crías fueron utilizadas para los estudios de laboratorio presentados posteriormente en este trabajo.

### **2. Metodología de diferenciación de especies**

Por la importancia que tiene la diferenciación de *P. burnerae* con respecto a otras especies de pseudocóccidos en cítricos, que se presentan frecuentemente y en ocasiones también de forma asociada, se compararon caracteres morfológicos y físicos de las especies *P. burnerae*, *P. citri* y *D. aberiae* bajo lupa binocular para, de esta forma, facilitar la identificación y separación de estas especies en campo y laboratorio.

Para elegir los caracteres más destacados para su diferenciación, se realizaron repetidas observaciones de individuos de cada una de las especies, centrandó la atención sobre las

hembras adultas. Concretamente, los caracteres que se utilizaron para la separación de las especies fueron la forma del cuerpo, la presencia o ausencia de líneas dorsales, la longitud de los filamentos laterales y anales y el color del cuerpo desprovisto de cera y de los huevos. Además de estos caracteres morfológicos y físicos, también se compararon los síntomas que ocasionan cada uno de estos pseudocóccidos en las hojas y los frutos de los cítricos.

Los individuos de *P. citri* y *D. aberiae* utilizados para el estudio de caracteres de interés también fueron obtenidos de las crías masivas ubicadas en el Instituto Agroforestal Mediterráneo.

### 3. Diseño y análisis del ensayo sobre caracterización de síntomas en hojas

#### 3.1. Diseño del experimento

El experimento consistió en la infestación artificial de hojas de cítricos de diferentes tamaños con ninfas de *P. burnerae* obtenidas de la cría establecida en el Instituto Agroforestal Mediterráneo. Se utilizaron plantones de la variedad “Valencia Late” bajo condiciones de invernadero. Los plantones se seleccionaron de modo que no estuvieran inicialmente infestados por ninguna especie de pseudocóccido y no se les aplicó ningún producto insecticida durante el experimento de modo que los pseudocóccidos no vieran alterada su actividad por factores externos.

Se establecieron ocho categorías de hojas para el experimento:

- Categoría 1: hojas que midieran hasta 0,5 cm longitudinalmente
- Categoría 2: hojas de entre 0,6 y 1 cm
- Categoría 3: hojas de entre 1,1 y 1,5 cm
- Categoría 4: hojas de entre 1,6 y 2 cm
- Categoría 5: hojas de entre 2,1 y 2,5 cm
- Categoría 6: hojas de entre 2,6 y 3 cm
- Categoría 7: hojas de entre 3,1 y 3,5 cm
- Categoría 8: hojas de entre 3,6 y 4 cm

Se realizaron entre 10 y 17 repeticiones por cada categoría. Cada hoja seleccionada fue infestada con 1 o 2 ninfas, pudiendo ser de primer o de segundo estadio. Para que se dieran por válidas las repeticiones las ninfas debían permanecer en la hoja un mínimo de 24 horas, y todas las ninfas se retiraron de las hojas a los 7 días.

Se anotó la medida inicial de la hoja en el momento de la infestación, así como el número de ninfas presentes en la hoja. A los 7 días se tomó de nuevo la medida de la hoja, la presencia o ausencia de pseudocóccidos y se anotó la presencia o ausencia de síntomas en ésta. A los 14 días se volvió a anotar la medida y la presencia o ausencia de síntoma en la hoja. Finalmente, se hizo una última medición y caracterización de síntomas a los 30 días de la infestación. Para la caracterización de los síntomas se establecieron 3 categorías según la intensidad del pinzamiento, asignando el número 1 a las hojas con síntomas más débiles, el número 2 a los síntomas de intensidad intermedia y el número 3 a las hojas con síntomas más fuertes.

### 3.2. Análisis de datos

Se mostraron gráficamente los diferentes porcentajes de hojas con síntoma según el tamaño de hoja inicialmente infestada. Se comprobó la existencia de diferencias significativas, entre los grupos de tamaño de hojas, según el porcentaje de hojas deformadas, mediante una prueba chi-cuadrado. También se analizaron las diferencias existentes en la intensidad de los síntomas observados en cada una de las categorías.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion versión 18.1.13 (64 bit).

## 4. Estudio de las poblaciones de *P. burnerae* en campo

### 4.1. Parcelas de muestreo

El estudio de las poblaciones de *P. burnerae* en campo se ha llevado a cabo en 3 parcelas comerciales de cítricos ubicadas en el municipio de Pego (Alicante) (Figura 8) durante los años 2022 y 2023, concretamente desde marzo de 2022 hasta agosto de 2023.

Las parcelas fueron seleccionadas tras la detección del pseudocóccido, teniendo un grado de infestación variable y, en al menos 2 de ellas (Pego 3 y Pego 4), estando libres de tratamientos químicos contra pseudocócidos.

La parcela de Pego 2, si bien fue muestreada, mostró niveles poblacionales de *P. burnerae* excesivamente bajos para ser considerada en un estudio del comportamiento de este pseudocóccido en campo, quedando descartada de los resultados finales.

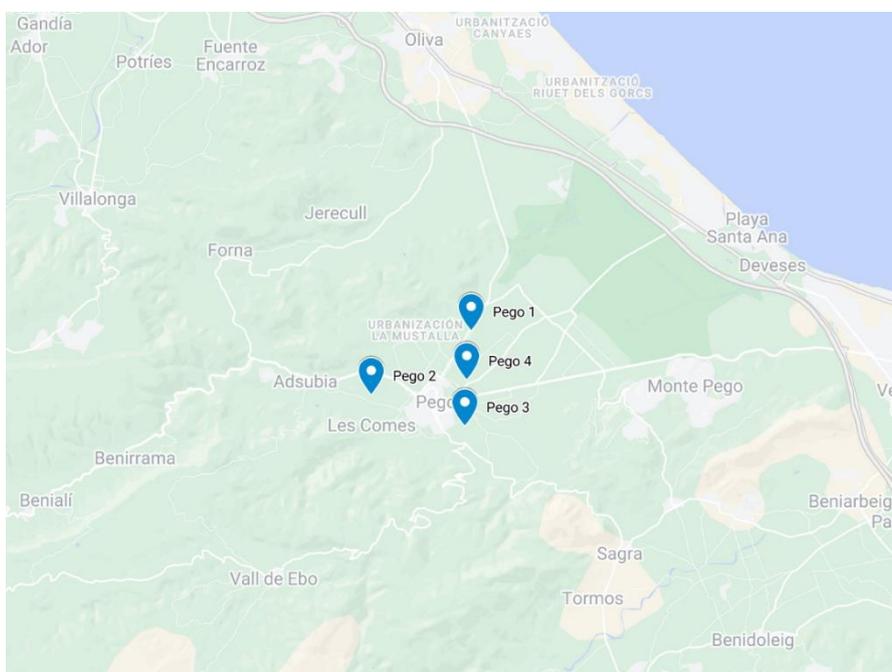


Figura 8. Localización de las parcelas de estudio en la localidad de Pego (Alicante)

## 4.2. Método de muestreo

En primer término, se ha de señalar que se trata de una plaga que actualmente se está asentando en la zona de estudio y, si bien cada vez se registran más parcelas con presencia de este pseudocóccido en la zona de Pego, las poblaciones son bajas y cambiantes, siendo muy susceptibles a una gran cantidad de factores (climáticos, actividades de manejo del cultivo, etc.) que pueden provocar que las poblaciones bajen hasta niveles mínimos en un corto periodo de tiempo. Debido a esta problemática, se han ido incorporando y descartando parcelas a lo largo del periodo de muestreo, procurando tener población suficiente para un correcto estudio del comportamiento de *P. burnerae* en campo. También se ha ido modificando el método de muestreo a lo largo del tiempo, perfeccionándolo a la vez que se iba entendiendo mejor el comportamiento y la localización de las poblaciones de *P. burnerae* en la planta huésped. Así, se ha estudiado tanto la dinámica como la estructura poblacional en diferentes sustratos vegetales (hojas refugio, hojas pinzadas y frutos) con el objetivo de conocer la localización de las poblaciones en cada fase fenológica, así como la existencia de posibles movimientos migratorios de las poblaciones de *P. burnerae* dentro de la planta huésped.

Antes de describir los distintos muestreos realizados conviene caracterizar los sustratos vegetales en los que se ha realizado el recuento de la población de *P. burnerae* (Anexo 1):

1. Hojas Refugio: hojas viejas de brotaciones anteriores con algún tipo de deformación y generalmente con suciedad procedente de restos de otras plagas, de manera que resultaran hojas que garantizaran protección y, por lo tanto, que fueran favorables para este pseudocóccido.
2. Hojas Pinzadas de la brotación del año: hojas formadas en el año de muestreo con los síntomas de pinzamiento típicos de *P. burnerae*.
3. Frutos: se realizó un seguimiento de la población presente en los frutos desde el momento de aparición de éstos en primavera hasta su recolección.
4. Brotes: se recolectaron brotes formados por entre 4 y 8 hojas pequeñas, recién brotadas, que medían entre 5 y 15 mm.

Tal como se ha explicado anteriormente, en los muestreos se han ido incorporando diferentes sustratos de la planta a medida que se ha detectado la plaga en ellos. De esta manera las cantidades de muestra también han ido cambiando en función de la densidad encontrada en cada uno de los sustratos muestreados. La finalidad de estos cambios es diseñar un muestreo lo más acorde posible al comportamiento de la plaga en campo.

Desde marzo a octubre de 2022, los muestreos se realizaron en las únicas dos parcelas con detección de la plaga, Pego 1 y Pego 2. En ellas se realizaron las primeras observaciones de las poblaciones de este insecto, recogiendo un mínimo de 35 hojas refugio por muestreo de manera aleatoria.

A partir de noviembre de 2022, se detectan nuevas parcelas con presencia de la plaga y se muestrearon las parcelas Pego 1, 3 y 4, abandonando la parcela 2 por tener, en ese momento, niveles inapreciables. En ellas, el muestreo consistió en recoger de 9 árboles de cada parcela las siguientes muestras:

- 20 hojas de la brotación de 2022 por árbol, 10 con síntoma de pinzamiento (en caso de haberlas) y 10 sin síntoma de pinzamiento.
- 10 brotes por árbol (en épocas de brotación)
- Entre 35 y 50 hojas refugio a lo largo de la parcela, dependiendo del nivel de población en la parcela, de modo que en los momentos de bajas densidades poblacionales se recogían menos hojas para favorecer el desarrollo de la población.

A partir de abril del año 2023 y hasta la actualidad, con un mayor conocimiento del comportamiento de la plaga, se ha muestreado la parcela Pego 4. Se han mantenido los 9 árboles para el muestreo, y las muestras seleccionadas han sido:

- 10 hojas pinzadas por árbol de la brotación 2022
- 10 brotes por árbol (en época de abundante brotación), siendo un mínimo de 20 brotes en la parcela (en épocas de menor brotación).
- Entre 35 y 50 hojas refugio a lo largo de la parcela, dependiendo del nivel de población en la parcela, de modo que en los momentos de bajas densidades poblacionales se recogían menos hojas para favorecer el desarrollo de la población.
- 30 frutos a lo largo de la parcela

Todos los órganos vegetales muestreados se llevaron al laboratorio y bajo lupa binocular se realizó un recuento del número de individuos de *P. burnerae* presentes en cada uno de ellos, así como su estadio de desarrollo. El recuento de población se realizó en el laboratorio para poder precisar el estadio de desarrollo de todos los individuos y asegurar un correcto recuento de los inmaduros de menor tamaño que podrían pasar desapercibidos en un recuento en campo con lupas con un menor número de aumentos.

### 4.3. Análisis de datos

Con los datos obtenidos en los distintos muestreos se pudo representar gráficamente tanto la dinámica como la estructura poblacional de *P. burnerae* a lo largo del año en los diferentes sustratos muestreados. Mediante el cálculo del promedio de individuos por hoja se pudo describir la dinámica del pseudocóccido tanto en las hojas refugio como en las hojas pinzadas de la brotación de 2022. También se pudo dibujar la variación de la estructura poblacional en estos sustratos mediante el cálculo de los porcentajes de los diferentes estadios de desarrollo observados en cada muestreo. En lo respectivo a los frutos y brotes, se calcularon los porcentajes de ocupación observados en los periodos en los que había presencia de estos sustratos vegetales con plaga con el objetivo de conocer la dinámica poblacional de *P. burnerae* en estos órganos.

## 5. Diseño y análisis del ensayo sobre eficacia de los parasitoides *C. perminutus* y *A. vladimiri* para el control de *P. burnerae*

Debido al bajo porcentaje de individuos de *P. burnerae* parasitados observado en campo, se realizaron 2 ensayos de parasitismo en condiciones de laboratorio para determinar la capacidad

de los parasitoides *C. perminutus* y *A. vladimiri* para controlar las poblaciones de *P. burnerae*. Estos ensayos forman parte de un estudio más amplio en el que se pretende determinar la capacidad de algunos de los parasitoides más abundantes en los campos de cítricos valencianos de parasitar al pseudocóccido *P. burnerae*.

Los parasitoides *C. perminutus* y *A. vladimiri* están descritos como agentes de control del pseudocóccido *P. citri* (Ceballo y Walter, 2005; Mendel et al., 1992), estando ambos presentes en los campos de cítricos valencianos. De esta forma, el estudio de su idoneidad como parasitoides de *P. burnerae* resultará útil para establecer programas de control biológico de este pseudocóccido.

### 5.1. Cría de los parasitoides

Los individuos de *C. perminutus* se criaron sobre una población de *P. citri* mantenida en calabaza tipo cacahuate en el interior de un evolucionario de plástico con malla fina en las cámaras del Instituto Agroforestal Mediterráneo bajo condiciones controladas, a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , una humedad relativa del 50-70% y un fotoperíodo de 14L:10O. Los parasitoides utilizados en el ensayo se recolectaron como pupas, se individualizaron y se dejaron evolucionar a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  en el interior de tubos Eppendorf tapados con algodón para permitir su ventilación. Las hembras seleccionadas tenían menos de 48 horas de vida y no fueron puestas en contacto con machos, ya que se trata de una especie que se reproduce mediante partenogénesis telitoca (Fernandes et al., 2016). De esta forma, las hembras adultas son capaces de tener descendencia sin la necesidad de ser fecundadas por machos, generando generaciones sucesivas formadas únicamente por hembras.

Las pupas del parasitoide *A. vladimiri* fueron obtenidas de la empresa Agrobio S.L.. Las pupas se individualizaron y se dejaron evolucionar a una temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  en el interior de tubos Eppendorf tapados con algodón para facilitar su ventilación. Con el objetivo de obtener hembras fecundadas, una vez emergidos los parasitoides se juntaron por parejas (macho y hembra) en las placas de Petri en las que se realizaron las repeticiones del ensayo junto a los pseudocóccidos.

### 5.2. Diseño del experimento

El experimento consistió en exponer 8 individuos de *P. burnerae* de diferentes estadios (2 individuos de 1º estadio, 2 individuos de 2º estadio, 2 individuos de 3º estadio y 2 hembras adultas) a los parasitoides *C. perminutus* y *A. vladimiri*, poniendo en placas separadas cada una de las dos especies de parasitoides. El experimento se llevó a cabo bajo condiciones controladas en laboratorio, a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  de temperatura, una humedad relativa del 60-70% y un fotoperíodo de 14L:10O. Se realizaron 10 repeticiones para cada parasitoide en placas de Petri de 14 cm de diámetro, poniendo en cada una de ellas una judía fresca como sustrato alimenticio para los pseudocóccidos. Los pseudocóccidos se colocaron en las placas con judía 2 horas antes del inicio del ensayo para favorecer su asentamiento. A continuación, se añadió a cada placa un parasitoide (o una pareja en el caso de *A. vladimiri*), quedando 10 placas con el parasitoide *C. perminutus* y 10 placas con los parasitoides *A. vladimiri*.

En el caso de *C. perminutus*, a las 24 horas se retiraron los parasitoides de las placas con los pseudocóccidos. Por otra parte, los individuos de *A. vladimiri* se dejaron en contacto con los

pseudocóccidos 72 horas. Esto es debido a que las hembras de *A. vladimiri* necesitan tiempo para poder ser fecundadas por los machos, necesitando un periodo más prolongado para poder parasitar. Sin embargo, las hembras *C. perminutus* emergen de las pupas siendo capaces de iniciar el parasitismo de inmediato, sin necesidad de ser fecundadas, necesitando así menos tiempo para parasitar a los pseudocóccidos.

A los 10 días se observaron las placas y se anotaron el número de individuos parasitados, teniendo en cuenta en que estadio fueron expuestos a los parasitoides.

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **1. Diferenciación de *P. burnerae* respecto a otros pseudocóccidos de importancia en cítricos**

### **1.1. Caracteres morfológicos y físicos del cuerpo de *P. burnerae***

#### **1.1.1. Forma del cuerpo y características básicas de diferenciación**

Atendiendo a la forma del cuerpo de las hembras adultas, cabe destacar que la especie *P. burnerae* presenta un cuerpo más aplanado que las otras dos especies. *P. citri* tiene el cuerpo claramente más convexo en el dorso, adquiriendo una forma más globosa (Martínez-Ferrer, 2003) y voluminosa que *P. burnerae*. Por otro lado, la especie *D. aberiae* presenta un cuerpo menos globoso que *P. citri*, y menos plano que *P. burnerae*.

Otra característica que permite la diferenciación de estos pseudocóccidos es la presencia o ausencia de líneas dorsales, que es la falta de secreción cérica en la zona dorsal central del cuerpo. Con relación a este aspecto, las hembras adultas de *P. citri* se pueden separar claramente de las hembras de las otras dos especies, ya que presenta en el dorso del cuerpo una zona central en forma de línea sin cera blanca (Wakgari y Giliomee, 2005). Tanto *P. burnerae* como *D. aberiae* tienen el cuerpo completamente cubierto de cera, no diferenciándose ninguna línea calva o dorsal típica de *P. citri*.

Los filamentos cerosos que rodean el cuerpo de estos pseudocóccidos tienen una gran importancia en su diferenciación. En primer lugar, se pueden establecer claras diferencias entre estas especies atendiendo a la longitud de sus filamentos laterales respecto a los filamentos anales (los dos filamentos situados en la parte posterior del cuerpo). La especie *D. aberiae* presenta unos filamentos laterales muy cortos, estando más desarrollados los de la parte posterior. Así, los filamentos anales de esta especie son claramente más largos y vistosos que los laterales, siendo ligeramente más largos que las antenas (Miller y Giliomee, 2011). Por otro lado, los filamentos laterales de *P. citri* aunque claramente visibles, son todos cortos, equidistantes y de igual longitud. A diferencia de los de *D. aberiae*, los filamentos anales de *P. citri* tienen la misma longitud que los laterales, siendo más cortos que los de *D. aberiae*. Por último, *P. burnerae* posee filamentos laterales significativamente más desarrollados y vistosos que las otras dos especies, siendo equidistantes y de similar longitud. Los filamentos anales de *P. burnerae* son de mayor longitud que los laterales, midiendo de 2 a 3 veces la longitud de los laterales. Por tanto, la especie *P. burnerae* se diferencia de las otras dos por presentar unos filamentos laterales y anales prominentes que destacan en una observación macroscópica (Tabla 1).

#### **1.1.2. Color del cuerpo**

La coloración del cuerpo (observable plenamente con la eliminación de las ceras que bordean sus cuerpos) es un carácter de gran importancia a la hora de separar la especie *P. burnerae* de las otras dos. *P. burnerae* presenta una coloración mucho más oscura que los otros dos pseudocóccidos, siendo especialmente notorio en el caso de las hembras adultas (Tabla 1).

Las hembras adultas de *P. citri* presentan un color amarillento o rosado, especialmente evidente cuando se elimina la capa de cera que cubre su cuerpo. Por otro lado, *D. aberiae* vira hacia un color más grisáceo o rosado, dependiendo de las condiciones ambientales (Cox, 1983; Charles et al, 2000). Estos dos pseudocócidos, aunque pueden variar ligeramente su coloración dependiendo del sustrato de alimentación y factores ambientales, presentan coloraciones claras. Además, las hembras adultas de *P. burnerae* tienen un color más oscuro, pudiendo ser desde marrón-rojizo hasta un tono vinoso que le confiere un aspecto oscuro característico.

Tabla 1. Ilustraciones detalladas de las especies *Paracoccus burnerae*, *Planococcus citri* y *Delottococcus aberiae* destacando los caracteres morfológicos y físicos de mayor interés para su diferenciación.

CARACTERES A DESTACAR	<i>Paracoccus burnerae</i>	<i>Planococcus citri</i>	<i>Delottococcus aberiae</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Forma del cuerpo y características básicas de diferenciación</li> <li>- Filamentos laterales y anales</li> </ul>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Color del cuerpo sin cera</li> </ul>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ovisaco y color de los huevos</li> </ul>			

### 1.1.1. Color de los huevos

Al igual que ocurre con el cuerpo de las hembras, los huevos de las distintas especies se pueden distinguir por su color, especialmente los huevos de *P. burnerae*, ya que poseen un color más oscuro que los de las otras dos especies.

En este caso, los huevos de las especies *D. aberiae* y *P. citri* son prácticamente indistinguibles por su color, siendo en ambos casos amarillos. Si bien, en el caso de *D. aberiae* pueden virar hacia colores más anaranjados. En el caso de *P. burnerae*, los huevos adquieren colores más oscuros, pudiendo ser desde un marrón anaranjado hasta un color marrón más oscuro (Tabla 1).

Este carácter puede ser de utilidad para la diferenciación de las especies descritas sin necesidad de utilizar lupas con grandes aumentos. Simplemente abriendo los ovisacos se puede observar claramente el color de los huevos, permitiendo la separación de la especie *P. burnerae* en caso de observar hembras con ovisaco.

## 1.2. Síntomas en campo

### 1.2.1. Síntomas en hojas

La presencia de *P. burnerae* en los campos de cítricos se puede detectar por la presencia de hojas con síntoma de pinzamiento, por lo que este síntoma es muy característico, siendo un claro indicador de que existe o ha existido presencia de población de *P. burnerae* en una determinada zona.

*P. burnerae* es capaz de producir fuertes deformaciones en las hojas de los cítricos cuando éstas están todavía en una etapa incipiente de su desarrollo y miden pocos milímetros. Estas deformaciones adquieren una forma de pinzamiento típica que permite su clara identificación en campo (Tabla 2). Según la localización de los insectos en las pequeñas hojas en el momento de infestación, el pinzamiento puede aparecer en la zona basal, medial o apical de la hoja. También pueden observarse hojas con más de una zona pinzada, síntoma indicativo de que tuvo un alto nivel de infestación durante su fase inicial de crecimiento.

Ningún otro pseudocóccido presente en los campos de cítricos valencianos produce síntomas similares en las hojas, por lo que la observación de este tipo síntomas es un indicador certero que indica la presencia de *P. burnerae* en el momento en que se produjo la brotación de las hojas.

Tabla 2. Ilustraciones de los síntomas en hojas ocasionados por *Paracoccus burnerae*.

	<b><i>Paracoccus burnerae</i></b>	
- Síntomas en hoja		

### 1.2.2. Síntomas en frutos

Los tres pseudocóccidos comparados en este estudio pueden producir en mayor o menor medida algún tipo de deformación en los frutos de los cítricos. Si bien, en los casos de *P. burnerae* y *P. citri* necesitan que sus poblaciones en campo sean elevadas para poder observar daños en frutos.

*D. aberiae* produce graves daños en los frutos, ya sea deformándolos o reduciendo su tamaño en el caso de las mandarinas. Estas deformaciones adquieren forma de abultamientos en la zona cercana al cáliz del fruto, pudiéndose observar también frutos completamente distorsionados y con un tamaño significativamente inferior (Beltrà et al., 2013).

En el caso de *P. citri* es poco común encontrar frutos con daños producidos por esta plaga, ya que se necesitan altas densidades poblacionales para que se observen deformaciones en los frutos. No obstante, pueden establecerse colonias en la zona del cáliz de los frutos cuando éstos están en la fase inicial de crecimiento y producir deformaciones en forma de hendiduras o depresiones en la zona cercana al cáliz.

*P. burnerae*, al igual que *P. citri*, también necesita de altas densidades poblacionales en campo para producir daños significativos en los frutos. Los daños producidos por *P. burnerae* son de la misma naturaleza que los producidos por *P. citri*, produciendo deformaciones en forma de ligeras hendiduras o cavidades en los frutos debido al establecimiento de una o varias colonias de esta especie de insecto (Tabla 3).

Tabla 3. Ilustraciones de los síntomas típicos ocasionados sobre los frutos por los pseudocóccidos *Paracoccus burnerae*, *Planococcus citri* y *Delottococcus aberiae*.

	<b><i>Paracoccus burnerae</i></b>	<b><i>Planococcus citri</i></b>	<b><i>Delotococcus aberiae</i></b>
- Deformaciones en fruto			

## 2. Caracterización de síntomas en hojas en laboratorio

La figura 9 muestra que los mayores porcentajes de hojas deformadas se alcanzan cuando las ninfas de *P. burnerae* infestan las hojas de menor tamaño. La prueba chi-cuadrado muestra la existencia de dependencia entre las variables tamaño de hoja y ausencia o presencia de síntomas (Estadístico = 31.485, gl = 5,  $P < 0.05$ ). Todas las hojas infestadas con ninfas de *P. burnerae* con un tamaño inferior a 15 mm acabaron mostrando deformaciones. A partir de este tamaño se observa como los porcentajes de hojas con daño bajan progresivamente a medida que aumenta el tamaño de las hojas infestadas, llegando a porcentajes del 0% de daño en las hojas con medidas iguales o superiores a 31 mm. Las hojas con un tamaño de entre 16 mm y 20 mm mostraron un porcentaje de deformación del 71%. Las hojas con un tamaño de entre 21 mm y 25 mm fueron deformadas en el 53 % de los casos, y las de un tamaño de entre 26 mm y 30 mm mostraron un porcentaje de daño del 20%. Las hojas con un tamaño de entre 31 mm y 35 mm no mostraron ningún tipo de deformación, al igual que las hojas de entre 36 mm y 40 mm.

El hecho de que las hojas con un menor tamaño sean más susceptibles a ser deformadas puede estar relacionado con el cambio en la composición química que se da en los tejidos de las hojas a medida que estas van madurando y aumentando su tamaño. Las hojas recién formadas tienen valores de peso específico foliar (relación de peso seco por área de hoja) significativamente inferiores que las hojas maduras de mayor tamaño. Esto es debido a los procesos de engrosamiento de la pared celular del mesófilo, lignificación, suberización y desarrollo de la cutícula de la hoja, lo que se traduce en un progresivo aumento de la rigidez de la hoja (Scott et al., 1945). En este aspecto, la cutícula es una capa que experimenta significativos cambios en el proceso de maduración de las hojas, siendo aproximadamente 15 veces más gruesa en las hojas maduras que en las recién formadas (Syvertsen et al., 1981). Debido a este progresivo endurecimiento de las hojas, a medida que se desarrollan y aumentan de tamaño, se vuelven menos susceptibles de ser deformadas por *P. burnerae*, que únicamente puede producir deformaciones cuando las hojas tienen pocos días de desarrollo y son más dúctiles.

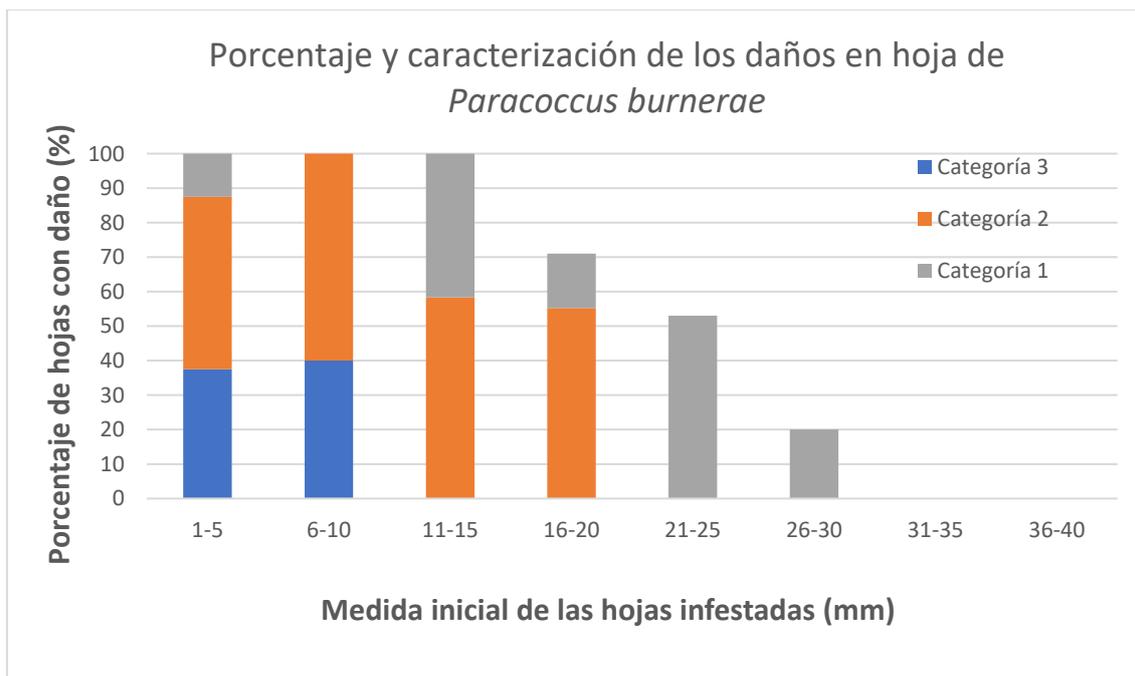


Figura 9. Porcentaje final de hojas con daños en cada una de las categorías de tamaño de hoja. Los daños observados en cada tamaño de hoja se clasifican según las categorías de daño establecidas: 1 = hojas con síntoma de pinzamiento débil, 2 = hojas con síntomas de pinzamiento de intensidad intermedia, 3 = hojas con fuertes síntomas de pinzamiento.

En cuanto a la caracterización de los daños, las tres categorías de daño en las hojas aparecen con diferentes porcentajes en cada uno de los grupos de tamaños de hoja (Figura 9). Únicamente en las hojas con tamaños inferiores a 11 mm aparecen hojas con deformaciones de categoría 3 (Figura 10), indicando que las deformaciones más intensas se dan cuando las ninfas infestan las hojas con un menor tamaño. En estos tamaños de hoja, se aprecia como casi el 40 % de las hojas tienen deformaciones de categoría 3, no obstante, el tipo de deformación más común se adscribe a daños de categoría 2 (Figura 11). En las hojas con medidas de entre 11 mm y 15 mm, y de entre 16 mm y 20 mm, no se observan daños de categoría 3, únicamente aparecen hojas con daños de categoría 2 y de categoría 1. Por último, las hojas de entre 21 mm y 25 mm, y de entre 26 mm y 30 mm, todas muestran daños de categoría 1 (Figura 12), demostrando que, a mayor tamaño de hoja inicialmente infestada, menor es la intensidad de síntoma observado en las hojas.

Las hojas infestadas con un tamaño menor mostraron daños de mayor intensidad, pudiéndose relacionar el estado de maduración de la hoja en el momento de infestación con la intensidad de los daños observados. Las hojas recién emergidas con un tamaño de pocos milímetros tienen tejidos poco endurecidos y una cutícula poco desarrollada (Syvertsen et al., 1981), permitiendo deformaciones más intensas. También ha de tenerse en cuenta que cuanto menor sea la superficie foliar en el momento de infestación, mayor es el porcentaje de área afectada por el estilete del pseudocóccido durante el proceso de alimentación, provocando deformaciones de mayor intensidad especialmente visibles a medida que la hoja aumenta de tamaño.



Figura 10. Hoja con daño de categoría 3 Figura 11. Hoja con daño de categoría 2 Figura 12. Hoja con daño de categoría 1

### 3. Estudio de las poblaciones de *P. burnerae*

#### 3.1. Estudio de la dinámica poblacional de *P. burnerae*

##### 3.1.1. Dinámica en Hojas Refugio

Durante el año 2022, la población de *P. burnerae* mostró hasta 3 picos poblacionales atendiendo al promedio de individuos observado en las hojas refugio. El primero de ellos se presentó en primavera, en el mes de mayo. A finales del mes de julio, durante el verano, la población alcanzó su mayor densidad en este sustrato, observando una media de casi 7 individuos de *P. burnerae* por hoja refugio muestreada. Finalmente, en otoño, a principios de noviembre se aprecia un último pico poblacional.

Durante 2023, se observaron poblaciones bajas en las hojas refugio de las parcelas estudiadas hasta la primavera, concretamente a finales de mayo se observa el primer pico poblacional de 2023. Este pico poblacional puede coincidir con el aumento de las poblaciones observado durante la primavera de 2022, confirmando que *P. burnerae* tiene un primer aumento de sus poblaciones en campo durante este periodo del año. Puede considerarse que las ninfas más jóvenes de esta población en crecimiento serán las que migren desde estas hojas refugio hasta los sustratos óptimos para el desarrollo de los pseudocóccidos, como son los brotes jóvenes y los frutos recién cuajados.

La dinámica poblacional descrita indica la aparición de dos picos poblacionales, uno en mayo y otro en julio (este último solo observado en el año 2022), seguidos de una brusca bajada de la densidad poblacional en el mes de agosto. Esta bajada puede ser debida a la acumulación de días con altas temperaturas y humedades relativas bajas, ya que es sabido que estas condiciones producen altas mortalidades en los pseudocóccidos, especialmente en los estadios más jóvenes (Browning, 1959; Bartlett y Clancy, 1972). Otro factor que explica la reducción de la población durante la segunda parte del verano es que, mientras que en primavera se produce la aparición de sustratos alimenticios de alta calidad como hojas recién formadas, flores y frutos, permitiendo un rápido desarrollo de la población, en la segunda mitad del verano la calidad de

los sustratos alimenticios baja y puede ser un factor limitante para el crecimiento de las poblaciones de pseudocóccidos (Martínez-Blay et al., 2018b). Por otra parte, la segunda brotación de los cítricos que se da en el mes de octubre implica la aparición de hojas tiernas ricas en carbohidratos que favorecen el crecimiento de las poblaciones de *P. burnerae*, evidenciándose en la aparición de un tercer pico poblacional durante el mes de noviembre de 2022 (Figura 13).

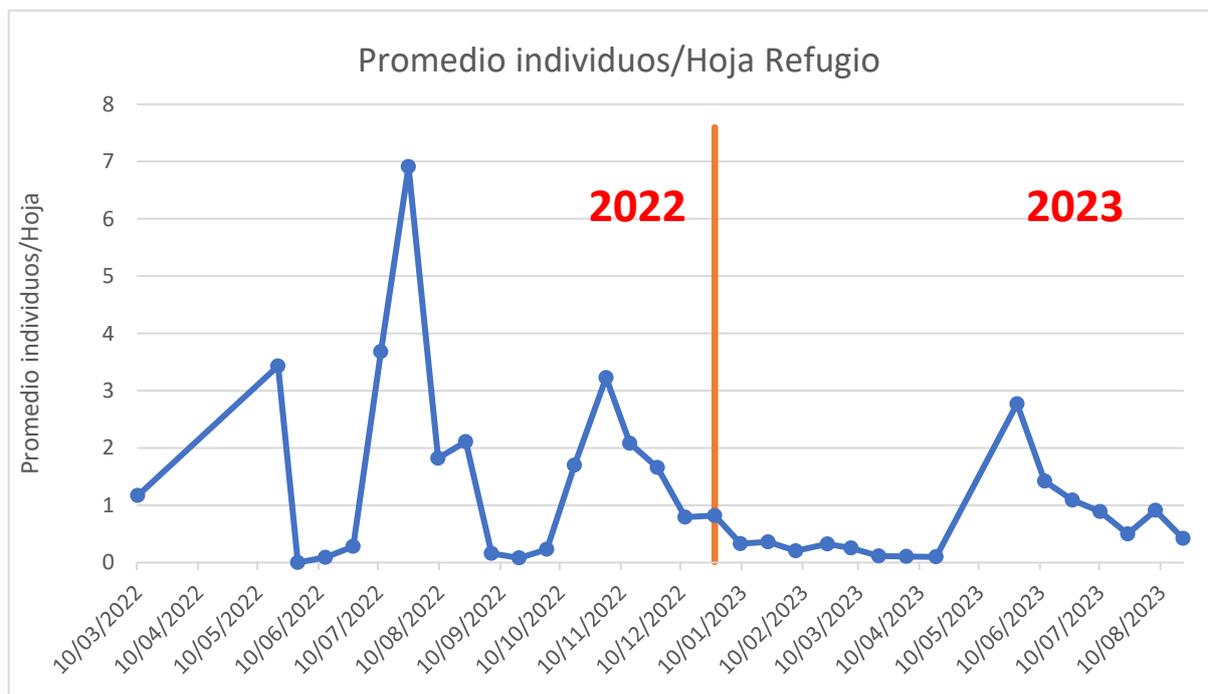


Figura 13. Evolución del número de individuos de *Paracoccus burnerae* por hoja refugio muestreada en las parcelas de Pego 1, Pego 3 y Pego 4. Los datos de promedio de individuos corresponden a la media realizada a partir de los datos obtenidos en cada una de las parcelas estudiadas. Se muestra con una barra vertical el punto de separación entre los años 2022 y 2023.

### 3.1.2. Dinámica en Hojas Pinzadas 2022

Según la figura 14, en el año 2022 se observaron altos niveles de población en las hojas pinzadas de la brotación de 2022 durante el otoño, observando un promedio de individuos por hoja superior a 1. La dinámica poblacional mantuvo un progresivo descenso hasta el mes de febrero de 2023, cuando el promedio de individuos por hojas se estabilizó en torno al 0,2. A partir del mes de marzo de 2023, durante el comienzo de la primavera, se observa un aumento progresivo de la población en campo hasta llegar a un pico poblacional a principios del mes de mayo. Aproximadamente 2 meses después de este pico, a finales de junio se observó otro aumento de la población de *P. burnerae*.

La dinámica observada en las hojas pinzadas de la brotación de 2022 sigue el mismo patrón que la observada en las hojas refugio. Se observa un progresivo descenso de la población de *P. burnerae* a partir del mes de diciembre, después de llegar a un pico poblacional durante el mes de noviembre. Este pico, como se ha comentado anteriormente, puede relacionarse con la aparición de hojas ricas en nutrientes en la brotación de otoño de los cítricos. El descenso de la

población observado en invierno puede explicarse por la existencia de condiciones climáticas adversas y la falta de sustratos alimenticios de calidad (Johnson y Giliomee, 2012). Al igual que en la dinámica descrita sobre las hojas refugio, en las hojas pinzadas de la brotación de 2022 se observa la aparición del primer pico poblacional del año 2023 durante el mes de mayo, en primavera, con la subida de las temperaturas y la aparición de una nueva brotación. También se registra otro pico poblacional durante el verano, a finales del mes de junio, seguido de un acusado descenso de la población durante la segunda parte del verano debido a las condiciones ambientales adversas (altas temperaturas y bajas humedades relativas) y a la falta de recursos alimenticios de alta calidad (Browning, 1959; Bartlett y Clancy, 1972; Martínez-Blay et al., 2018b).



Figura 14. Evolución del número de individuos de *Paracoccus burnerae* por hoja pinzada de la brotación de 2022 muestreada en las parcelas de Pego 3 y Pego 4. Los datos de promedio de individuos corresponden a la media realizada a partir de los datos obtenidos en cada una de las parcelas estudiadas. Se muestra con una barra vertical el punto de separación entre los años 2022 y 2023.

### 3.1.3. Dinámica en Frutos

En la figura 15 se muestra cómo ha evolucionado el porcentaje de frutos ocupados por *P. burnerae* desde la aparición de frutos recién cuajados en abril hasta el mes de septiembre de 2023. En primer lugar, ha de destacarse que prácticamente la totalidad de los individuos de *P. burnerae* se han localizado en la zona de debajo del cáliz, no pudiéndose observar su presencia a simple vista en campo. En este aspecto, tiene un comportamiento similar al de *P. citri*, el cual migra hacia los frutos durante el mes de mayo refugiándose bajo el cáliz, sin hacerse visible hasta el mes de julio (Martínez Ferrer, 2003). En la figura 15 se observa cómo se produce una fuerte migración de la población de *P. burnerae* a mediados del mes de mayo hacia los frutos en

crecimiento, encontrando mayormente ninfas de primer estadio debajo del cáliz de los frutos. Esta migración, realizada principalmente por los estadios de desarrollo más jóvenes, podría producirse desde las hojas más viejas que han servido de refugio a la población durante los meses de invierno. En este aspecto, el fruto es una gran fuente de carbohidratos, siendo un mejor sustrato en términos de calidad nutritiva que las hojas (Franco, 1994). Desde mediados del mes de mayo hasta finales del mes de junio, la ocupación de los frutos se mantiene por encima del 50%, bajando drásticamente este porcentaje a partir del mes de julio y agosto, cuando los frutos adquieren mayoritariamente un diámetro superior a 5 cm. Esta bajada puede deberse a que durante el mes de agosto la fisiología de los árboles cambia y disminuye el flujo de nutrientes hacia los frutos, convirtiéndolos en sustratos alimenticios de peor calidad (Franco, 1994; Agustí, 2003). Si bien, otro aspecto a destacar es la asociación de las poblaciones de *P. burnerae* y *P. citri* observada en los frutos muestreados, notándose también una importante presencia de *P. citri* en la zona de debajo del cáliz. La población de *P. citri* en los frutos creció significativamente desde finales del mes de junio, haciéndose mayoritaria en este sustrato durante los meses de julio y agosto. De esta manera, la población de *P. burnerae* pareció haber sido desplazada de los frutos por el crecimiento de las poblaciones de *P. citri*. Según Martínez Ferrer, 2003, la población de *P. citri* aumenta rápidamente su densidad sobre los frutos en los meses de junio y julio, llegando a ocupar más del 80 % de los frutos a mitad del mes de julio.

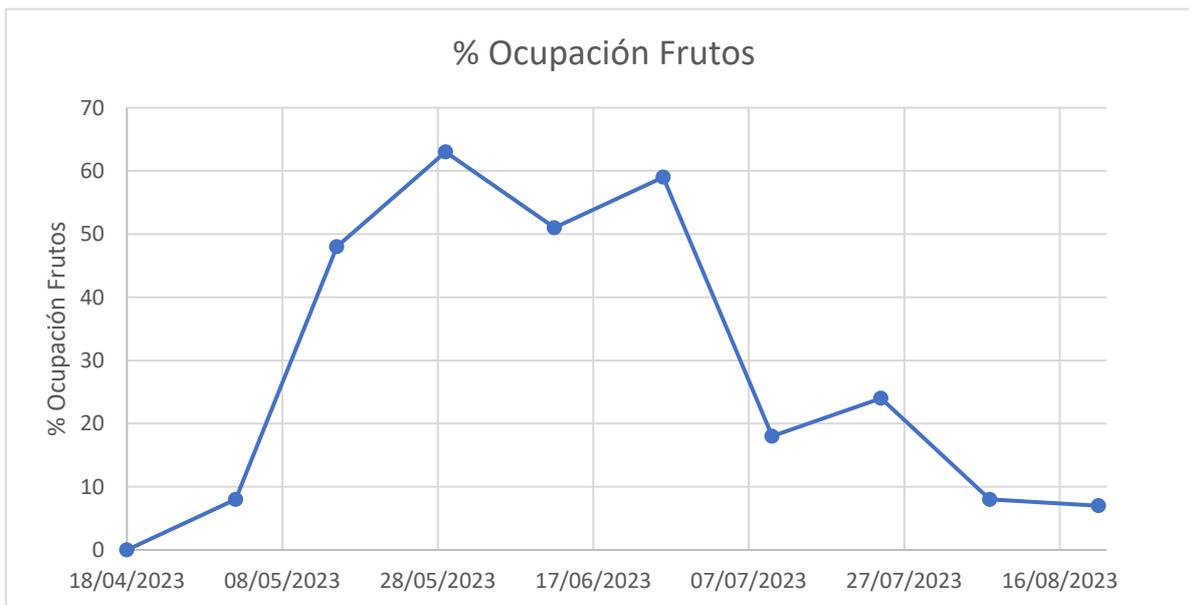


Figura 15. Evolución del porcentaje de frutos ocupados por *Paracoccus burnerae* en la parcela Pego 4 durante la primavera y verano de 2023.

### 3.2. Estudio de la estructura poblacional de *P. burnerae*

#### 3.2.1. Estructura en Hojas Refugio

Analizando los diferentes picos de abundancia de ninfas de primer estadio en las hojas refugio se puede inferir que *P. burnerae* tiene varias generaciones cada año (Figura 16).

En primer lugar, en el año 2022, se observan 3 picos de abundancia de ninfas de primer estadio. Estos picos muestran la aparición de una primera generación en primavera, en el mes de mayo. Esta primera generación coincide con el primer pico poblacional observado en la dinámica presentada en el punto anterior, infiriendo que es en esta época del año cuando se da la primera explosión poblacional de *P. burnerae* después del invierno. A continuación, durante el mes de julio de 2022, se observa otro crecimiento del porcentaje de ninfas de primer estadio, indicando la aparición de una segunda generación de *P. burnerae* durante el verano. Finalmente, encontramos la presencia de una tercera generación a principios del mes de octubre, cuando las ninfas de primer estadio llegan a representar el 76,5% del total de individuos observados en los muestreos. Integrando estos datos de estructura con el gráfico de dinámica de hojas refugio descrita en el punto anterior, se aprecia que las tres generaciones observadas durante el año 2022 coinciden con los momentos en los que la población de *P. burnerae* llegaba a un pico de abundancia en campo, pudiendo destacarse la generación aparecida en julio (segunda generación del año) como la generación con una cantidad de población más elevada (casi 7 individuos por hoja refugio muestreada). Por otro lado, las generaciones observadas en mayo y octubre están asociadas con un momento de menor abundancia poblacional, observándose abundancias de 3,43 y 3,23 individuos por hoja refugio respectivamente.

Atendiendo al año 2023, se observa la aparición de una primera generación de *P. burnerae* a mediados del mes de abril, en primavera, cuando las ninfas de primer estadio llegan a suponer un 55,6% de la población total. Se puede inferir la aparición de una segunda generación durante el mes de junio, durante el comienzo del verano. Atendiendo a la importancia de las generaciones según la cantidad de insectos observados en campo, destaca la generación aparecida durante el verano, asociándose a un momento de mayor abundancia poblacional (casi 3 individuos por hoja refugio). Por otro lado, la primera generación del 2023 se da en un momento con muy poca cantidad de insectos (valores cercanos a 0,1 individuos por hoja refugio). Se podría llegar a establecer una correlación positiva entre los datos de estructura poblacional observados en la primavera y verano de 2022 y 2023, ya que, aunque los picos de abundancia de ninfas de primer estadio de 2023 parece que estén desfasados con un mes de adelanto respecto a los picos observados en 2022, se siguen situando en las mismas épocas y guardan una distancia de tiempo similar entre sí. En los dos años hay una distancia cercana a los 2 meses entre la primera y la segunda generación de *P. burnerae*.

Durante el periodo de tiempo estudiado, se ha confirmado que el pseudocóccido *P. burnerae* presenta sucesivas generaciones anuales, observándose todos los estadios de desarrollo durante todo el periodo de muestreo. Este comportamiento es típico de otros pseudocóccidos de importancia agrícola presentes en la cuenca mediterránea tales como *P. madeirensis*, *P. citri* o *P. viburni* (Longo et al., 1995; Panis, 1969; Martínez Ferrer et al., 2003; Panis, 1986). El permanente solapamiento de estadios debe tenerse en cuenta a la hora de establecer estrategias de control para mitigar la plaga, especialmente a la hora de programar sueltas de enemigos naturales, ya que la eficacia de los parasitoides depende del estadio de desarrollo en el que se encuentran los pseudocóccidos a los que parasitan (Beltrà et al., 2013; Islam y Copland, 1997; Jervis et al., 2005; Tena et al., 2008).

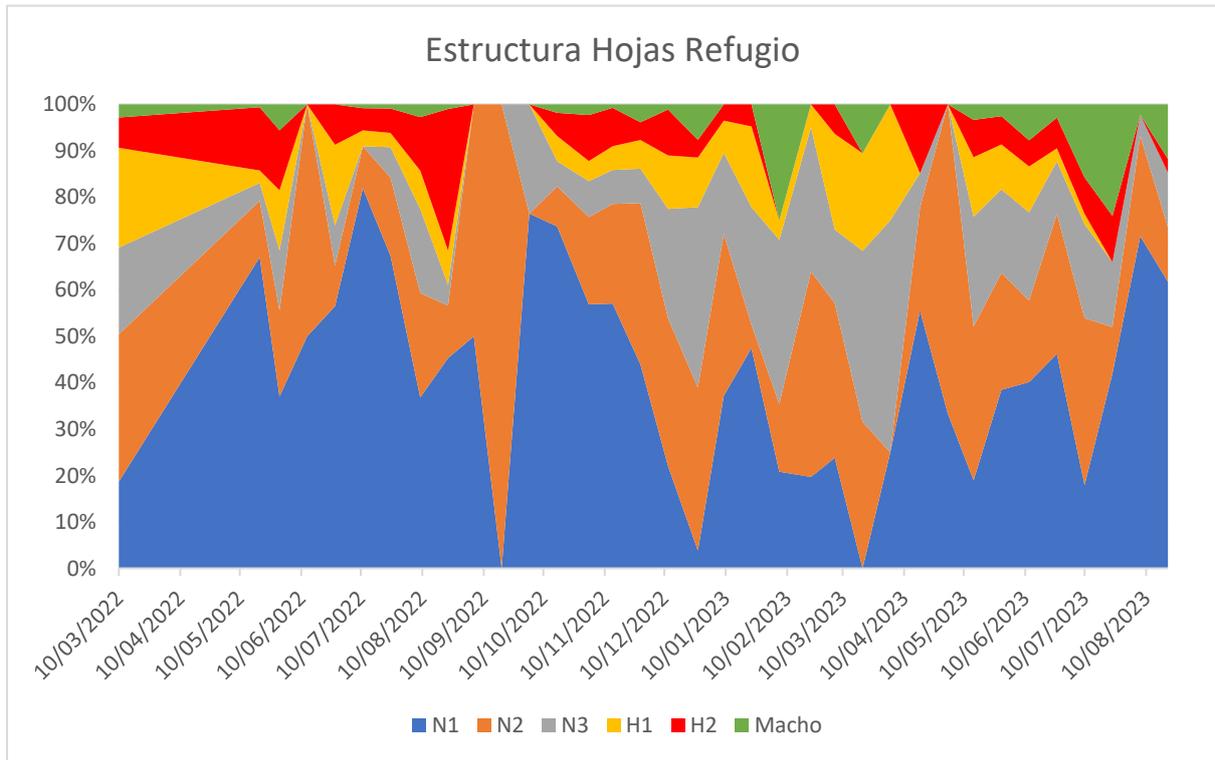


Figura 16. Abundancia relativa de los estadios de desarrollo de *Paracoccus burnerae* en las hojas refugio de las parcelas Pegó 1, Pegó 3 y Pegó 4. Los datos de abundancia relativa corresponden a la suma de los datos obtenidos en cada una de las parcelas estudiadas. El porcentaje de cada estadio de desarrollo por unidad de muestreo y fecha se representa desde el mes de marzo de 2022 hasta el mes de agosto de 2023 (N1 = ninfas de primer estadio, N2 = ninfas de segundo estadio, N3 = ninfas de tercer estadio, H1 = hembras jóvenes, H2 = hembras grávidas, Macho = machos adultos).

### 3.2.2. Estructura en Hojas Pinzadas 2022

Según la figura 17, que describe la estructura poblacional de *P. burnerae* sobre las hojas pinzadas de la brotación de 2022 en las parcelas de estudio, se nota un alto porcentaje (cercano al 70%) de ninfas de primer estadio a principios de noviembre de 2022, indicando la aparición de una generación en esta época. Esta generación se asocia a un momento en el que se observa un pico de abundancia en la dinámica poblacional, indicando que es una generación que debe tenerse en cuenta de cara al control de la plaga durante los meses de otoño.

En el año 2023, las ninfas de primer estadio llegan a un primer pico, en el que suponen cerca de un 70% de la estructura poblacional total, a principios del mes de mayo, indicando la aparición de la primera generación del año 2023. Dos meses después, una segunda subida de la abundancia de las ninfas de primer estadio, llegando a suponer cerca del 60% del total de población muestreada, indica la aparición de una segunda generación a finales del mes de junio. Estos dos picos de ninfas de primer estadio mantienen correlación con los picos poblacionales observados en la dinámica descrita en el punto anterior, en los que la población en campo llega a abundancias cercanas a 1,3 individuos por hoja. Así, se puede inferir que la población de *P. burnerae* en las hojas pinzadas de 2022 tiene una primera generación durante el mes de mayo donde la población en campo crece significativamente. Posteriormente, 2 meses después, la

población vuelve a experimentar un crecimiento acusado fruto de la aparición de la segunda generación del año.

Comparando las estructuras poblacionales obtenidas en las hojas refugio y las obtenidas en las hojas pinzadas de 2022, se puede observar una misma tendencia en los dos sustratos. Se observa la presencia de una generación de *P. burnerae* en noviembre de 2022, antes de comenzar el invierno. Atendiendo al año 2023, la primera generación se encuentra asociada a la aparición de la brotación de primavera, en los meses de abril y mayo, seguida de una generación a principios del verano, en el mes de junio. Así, se puede inferir que *P. burnerae* es capaz de completar un mínimo de 3 generaciones anuales, con presencia de solapamiento de estadios durante todo el año, teniendo, en este aspecto, el comportamiento típico de los pseudocócidos de importancia agrícola presentes en la cuenca mediterránea (Longo et al., 1995; Panis, 1969; Martínez Ferrer, 2003; Panis, 1986).

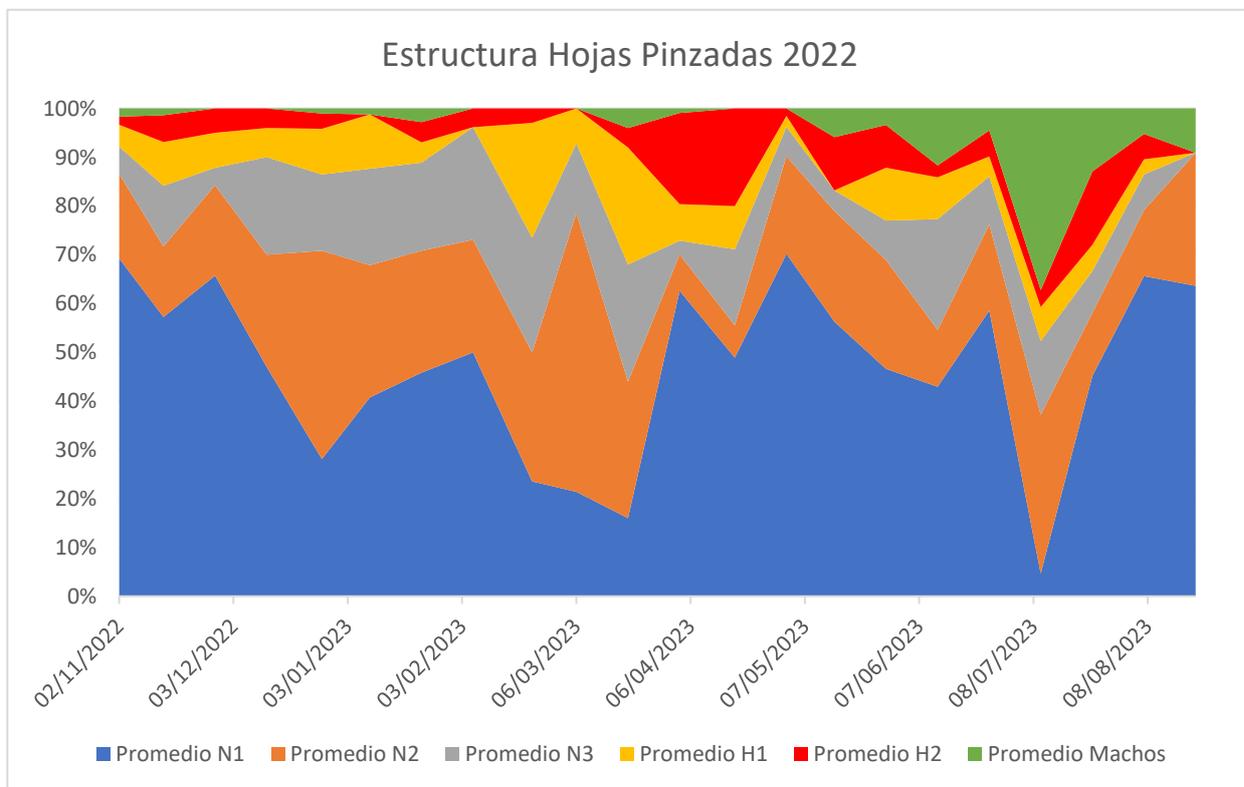


Figura 17. Abundancia relativa de los estadios de desarrollo de *Paracoccus burnerae* en las hojas pinzadas de la brotación de 2022 de las parcelas Pego 3 y Pego 4. Los datos de abundancia relativa corresponden a la suma de los datos obtenidos en cada una de las parcelas estudiadas. El porcentaje de cada estadio de desarrollo por unidad de muestreo y fecha se representa desde el mes de noviembre de 2022 hasta el mes de agosto de 2023 (N1 = ninfas de primer estadio, N2 = ninfas de segundo estadio, N3 = ninfas de tercer estadio, H1 = hembras jóvenes, H2 = hembras grávidas, Macho = machos adultos).

#### 4. Estudio de la eficacia de algunos parasitoides para el control de *P. burnerae*.

#### 4.1. Estudio de la eficacia del parasitoide *C. perminutus* para el control de *P. burnerae*

En ninguna de las diez repeticiones realizadas se observaron momias de *P. burnerae*. Tampoco se observó la presencia de huevos encapsulados en los individuos de pseudocóccidos recuperados a los 10 días tras su puesta en contacto con el parasitoide *C. perminutus*. De esta forma, se puede concluir que ninguno de los estadios de desarrollo de *P. burnerae* resultó ser un huésped adecuado para el parasitoide *C. perminutus*.

El parasitoide *C. perminutus* ha sido citado como agente de control de algunas especies del género *Planococcus*, destacando *P. citri* (Wakgari y Giliomee, 2003b). Este parasitoide está presente en los cultivos del Levante español (Beltrà et al., 2017) no obstante, no tiene un gran impacto en la reducción de poblaciones de pseudocóccidos en campo (Ceballo y Walter, 2005). Igualmente, en el estudio realizado por Johnson y Giliomee, 2012, no se reporta como un parasitoide importante para el control de *P. burnerae*.

#### 4.2. Estudio de la eficacia del parasitoide *A. vladimiri* para el control de *P. burnerae*

En el caso de la especie *A. vladimiri*, tampoco resultó ser un parasitoide eficaz para el control de *P. burnerae*, no observándose ningún individuo de pseudocóccido parasitado, independientemente del estadio de desarrollo del pseudocóccido al que fuera expuesto al parasitoide. Tampoco se observaron huevos encapsulados en ningún individuo de *P. burnerae*. De esta forma, se concluye que *P. burnerae* no es un huésped adecuado para *A. vladimiri*.

*A. vladimiri* está citado como uno de los principales parasitoides utilizados en programas de control biológico, parasitando pseudocóccidos de los géneros *Planococcus* y *Pseudococcus*, destacando su papel como parasitoide de la especie *P. citri* (Triapitsyn et al., 2007). Es un parasitoide disponible en el mercado de productos de control biológico en España, siendo comunes sus sueltas en los campos de cultivo para controlar al pseudocóccido *P. citri*. No obstante, en el trabajo de Johnson y Giliomee, 2012, en el que estudiaron los diferentes parasitoides de *P. burnerae* presentes en campos de cítricos sudafricanos, concluyeron que los parasitoides del género *Anagyrus* no realizan un control satisfactorio de la plaga.

## **CONCLUSIONES**

Las conclusiones sobre algunos aspectos de la ecología de *Paracoccus burnerae* a las que se llegan en este trabajo son las siguientes:

1. La separación macroscópica de la especie *P. burnerae* respecto a las especies *P. citri* y *D. aberiae* puede realizarse mediante la observación de características físicas (principalmente el color del cuerpo y de los huevos) y morfológicas (longitud de los filamentos laterales y anales, forma del cuerpo y presencia o ausencia de líneas dorsales), así como mediante la observación de los distintos tipos de síntomas que producen sobre las hojas y los frutos de los cítricos.
2. *P. burnerae* es capaz de producir deformaciones en forma de pinzamiento en las hojas de los cítricos cuando éstas están en una etapa incipiente de su desarrollo y hasta 30 milímetros de longitud.
3. *P. burnerae* es capaz de completar varias generaciones al año en nuestras condiciones climáticas, mostrando sus picos poblacionales en primavera, la primera mitad del verano y durante la brotación de otoño.
4. No existen diferencias entre las dinámicas observadas en las hojas jóvenes con síntomas de pinzamiento y las hojas más viejas y sucias (hojas refugio).
5. Durante las épocas más desfavorables para su desarrollo, gran parte de la población se localiza en las hojas más viejas y sucias (hojas refugio) desarrollándose lentamente, y haciendo coincidir la aparición de los estadios de desarrollo muy jóvenes con el momento de aparición los sustratos alimenticios más óptimos (brotes jóvenes y frutos). Estas poblaciones presentes en las hojas refugio podrían ser un importante foco de dispersión en las parcelas de cítricos.
6. Los parasitoides *C. perminutus* y *A. vladimiri* no realizan ningún tipo de control del pseudocóccido *P. burnerae* ya que no se ha podido demostrar su capacidad de parasitismo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- AGUSTÍ, M. (2003). *Citricultura*. Mundi-Prensa, Spain.
- BARTLETT, BR Y CLANCY, DW. (1972). The comstock mealybug in California and observations on some of its natural enemies. *Journal of Economic Entomology*, 65: 1329-1332.
- BELTRÀ, A Y SOTO, A. (2011). New records of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) from Spain. *Phytoparasitica*, 39: 385-387.
- BELTRÀ, A Y SOTO, A. (2012). *Pseudocóccidos de importancia agrícola y ornamental en España*. Editorial Universitat Politècnica de València, Spain.
- BELTRÀ, A; GARCÍA-MARÍ, F Y SOTO, A. (2013). El cotonet de Les Valls, *Delottococcus aberiae*, nueva plaga de los cítricos. *Levante Agrícola*, 419: 348-352.
- BELTRÀ, A; SOTO, A Y MALAUSA, T. (2012). Molecular and morphological characterisation of Pseudococcidae surveyed on crops and ornamental plants in Spain. *Bull Entomol Res*, 102: 165-172.
- BELTRÀ, A; NAVARRO-CAMPOS, C; CALABUIG, A; ESTOPÀ, L; WÄCKERS, FL; PEKAS, A Y SOTO, A. (2017). Association between ants (Hymenoptera: Formicidae) and the vine mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) in table-grape vineyards in Eastern Spain. *Pest management science*, 73(12): 2473-2480.
- BELTRÀ, A; SOTO, A; GERMAIN, JF; MATILE-FERRERO, D; MAZZEO, G; PELLIZZARI, G; RUSSO, A; FRANCO, JC Y WILLIAMS, DJ. (2010). The Bougainvillea mealybug *Phenacoccus peruvianus*, a rapid invader from South America to Europe. *Entomol Hellenica*, 19: 137-143.
- BEN-DOV, Y. (1994). *A systematic catalogue of the mealybugs of the World (Insecta: Homoptera: Coccoidea: Pseudococcidae and Putoidae) with data on geographical distribution, host plants, biology and economic importance*. Intercept Limited, UK.
- BEN-DOV, Y. (2005). The solanum mealybug, *Phenacoccus solani* Ferris (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae), extends its distribution range in the Mediterranean basin. *Phytoparasitica*, 33: 15-16.
- BEN-DOV, Y; GOTTLIEB, Y Y SANDO, T. (2005). First record of *Phenacoccus parvus* Morrison (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) from the Palaeartic region. *Phytoparasitica*, 33: 325-326.
- BHIMBERG, D; BEN-DOV, Y Y MENDEL, Z. (1999). The citriculus mealybug, *Pseudococcus cryptus* Hempel, and its natural enemies in Israel: history and present situation. *Entomologica*, 33: 141-152.
- BODENHEIMER, FS. (1951). *Citrus Entomology in the middle East*. Hoitsema Brothers- Groningen, Holland.
- BROWNING, TO. (1959). The long-tailed mealybug, *Pseudococcus adonidum* (L.) in South Australia. *Australian Journal of Agricultural Research*, 10: 322-339.

- CALATAYUD, PA; POLANÍA, MA; SELIGMANN, CD Y BELLOTTI, AC. (2002). Influence of water-stressed cassava on *Phenacoccus herreni* and three associated parasitoids. *Entomol Exp Appl*, 102: 163-175.
- CAMPOS, JM Y MARTÍNEZ-FERRER, MT. (2008). Side-effect of seven pesticides residues on *Anagyrus pseudococci* (Girault) and *Leptomastix dactylopii* Howard (Hymenoptera, Encyrtidae), parasitoids of citrus mealybug. *IOBC/wprs Bull*, 38: 111-116.
- CASTILLO, J Y BELLOTTI, A. (1990). Caracteres diagnósticos de cuatro especies de piojos harinosos (Pseudococcidae) en cultivos de yuca (*Manihot esculenta*) y observaciones sobre algunos de sus enemigos naturales. *Revista Colombiana de Entomología*, 16: 33-43.
- CEBALLO, FA Y WALTER, GH. (2005). Why is *Coccidoxenoides perminutus*, a mealybug parasitoid, ineffective as a biocontrol agent—Inaccurate measures of parasitism or low adult survival? *Biological control*, 33(3): 260-268.
- CHARLES, JG. (2011). Using parasitoids to infer a native range for the obscure mealybug, *Pseudococcus viburni*, in South America. *BioControl*, 56: 155-161.
- CHARLES, JG; FROUD, KJ Y HENDERSON, RC. (2000). Morphological variation and mating compatibility within the mealybugs *Pseudococcus calceolariae* and *P. similans* (Hemiptera: Pseudococcidae), and a new synonymy. *Syst. Entomol*, 25: 285-294.
- CHARLES, JG; WALKER, J Y WHITE, V. (1993). Resistance to chlorpyrifos in the mealybugs *Pseudococcus affinis* and *P. longispinus* in Hawkes Bay and Waikato pipfruit orchards. Proceedings of the 46th New Zealand Plant Protection Conference.
- COX, JM. (1983). An experimental-study of morphological variation in mealybugs (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae). *Syst. Entomol*, 8: 361-382.
- COX, JM. (1987). *Pseudococcidae (Insecta: Hemiptera): fauna of New Zealand*. Whenua Press, New Zealand.
- DAANE, KM; BENTLEY, WJ; WALTON, VM; MALAKAR-KUENEN, R; MILLAR, JG; INGELS, C; WEBER, E Y GISPERT, C. (2006). New controls investigated for vine mealybug. *Calif Agric*, 60: 31-38.
- DOUGLAS, AE. (2009). Honeydew. In *Encyclopedia of insects* (pp. 461-463). Academic Press, United States.
- FERNANDES, MHDA; OLIVEIRA, JEDM; COSTA, VA Y MENEZES, KOD. (2016). *Coccidoxenoides perminutus* parasitizing *Planococcus citri* on vine in Brazil. *Ciência Rural*, 46: 1130-1133.
- FRANCO, JC. (1994). Citrus phenology as a basis to study the population dynamics of the citrus mealybug complex in Portugal. In: Tribulato E, Gentile A, Reforgiato G (eds) Proc Int Soc Citric, Acireale, Italy, 1992, *International Society of Citriculture*, 3: 929–930.
- FRANCO, JC Y MAROTTA, SA. (1999). A survey of mealybugs (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) in citrus groves in continental Portugal. *Entomologica*, 33: 191-196.
- FRANCO, JC; SILVA, EB Y CARVALHO, JP. (2000). *Cochonilhas-algodão (Hemiptera, Pseudococcidae) associadas aos citrinos em Portugal*. ISA Press, Portugal.
- FRANCO, JC; ZADA, A Y MENDEL, Z. (2009). Novel Approaches for the Management of Mealybug Pests. *Biorational control of arthropod pests: application and resistance managements*. Springer, Netherlands.

- FRANCO, JC; SUMA, P; SILVA, EB; BLUMBERG, D Y MENDEL, Z. (2004). Management Strategies of Mealybug Pests of Citrus in Mediterranean Countries. *Phytoparasitica*, 32: 507-522.
- GARCÍA-MARÍ, F. (2012). *Plagas de los cítricos. Gestión integrada en países de clima mediterráneo*, Phytoma, Spain.
- GARCIA-MORALES, M; DENNO, B; MILLER, D; MILLER, G; BEN-DOV Y Y HARDY, N. (2016). *ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics*. Database. doi: 10.1093/database/bav118. <http://scalenet.info>. [9/7/2023].
- GULLAN, PJ Y MARTIN, J. (2009). Sternorrhyncha (jumping plant-lice, whiteflies, aphids, and scale insects), In *Encyclopedia of insects* (pp. 957-967). Academic Press, United States.
- GULLAN, PJ Y KOSZTARAB, M. (1997). Adaptations in scale insects. *Annu Rev Entomol*, 42: 23-50.
- HARDY, NB; GULLAN, PJ Y HODGSON, CJ. (2008). A subfamily-level classification of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) based on integrated molecular and morphological data. *Syst Entomol*, 33: 51-71.
- HATTINGH, V. (1993). Mealybugs and cottony cushion scale on citrus in Southern Africa. *Citrus Journal*, 3(2): 20-22.
- HATTINGH, V; CILLIERS, JC Y BEDFORD, ECG. (1998). Citrus mealybugs. In: *Citrus pests in the Republic of South Africa* (pp. 112-120). Dynamic AD, South Africa.
- HOGENDORP, BK; CLOYD, RA Y SWIADER, JM. (2006). Effect of nitrogen fertility on reproduction and development of citrus mealybug, *Planococcus citri* Risso (Homoptera: Pseudococcidae), feeding on two colors of coleus, *Solenostemon scutellarioides* L. Codd. *Environmental Entomology*, 35(2): 201-211.
- ISLAM, KS Y COPLAND, MJW. (1997). Host preference and progeny sex ratio in a solitary koinobiont mealybug endoparasitoid, *Anagyrus pseudococci* (Girault), in response to its host stage. *Biocontrol Sci Technol*, 7: 449-456.
- JERVIS, MA; COPLAND, MJW Y HARVEY, JA. (2005). The life-cycle. In: *Insect as Natural Enemies: A Practical Perspective* (pp. 73-165). Springer, Netherlands.
- JOHNSON, T. (2010). *Biology of the oleander mealybug, Paracoccus burnerae (Brain) (Hemiptera: Pseudococcidae)* (Doctoral dissertation, Stellenbosch: University of Stellenbosch).
- JOHNSON T Y GILIOMEE JH. (2012). Seasonal phenology and natural enemies of the oleander mealybug, *Paracoccus burnerae* (Brain) (Hemiptera: Pseudococcidae), in South Africa. *African Entomology*, 20(1): 1-7.
- KAIRO, MTK; POLLARD, GV; PETERKIN, DD Y LOPEZ, VF. (2000). Biological control of the hibiscus mealybug, *Maconellicoccus hirsutus* Green (Hemiptera: Pseudococcidae) in the Caribbean. *Integr. Pest Manag. Rev*, 5: 241-254.
- KONDO, T; PENNY, J Y WILLIAMS, D. (2008). Coccidology. The study of scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 9(2): 55-61.
- KOSZTARAB, M Y KOZÁR, F. (1988). *Scale Insects of Central Europe*. Dr W. Junk Publishers, Netherlands.

- LLOYD, DC. (1952). Parthenogenesis in the Mealybug, *Phenacoccus solani* Ferris. *Can Entomol*, 84: 308-310.
- LONGO, S; MAZZEO, G Y RUSSO, A. (1995). Biological observations on some scale insects (Homoptera: Coccoidea). *Sicily. Isr. J. Entomol*, 29: 219-222.
- MANI, M Y SHIVARAJU, C. (2016). *Mealybugs and their Management in Agricultural and Horticultural crops*. Springer, Netherlands.
- MARTÍNEZ-BLAY, V; PÉREZ-RODRÍGUEZ, J; TENA, A Y SOTO, A. (2018a). Seasonal distribution and movement of the invasive pest *Delottococcus aberiae* (Hemiptera: Pseudococcidae) within citrus tree: implications for its integrated management. *Journal of economic entomology*, 111(6): 2684-2692.
- MARTÍNEZ-BLAY, V; PÉREZ-RODRÍGUEZ, J; TENA, A Y SOTO, A. (2018b). Density and phenology of the invasive mealybug *Delottococcus aberiae* on citrus: implications for integrated pest management. *Journal of Pest Science*, 91: 625-637.
- MARTÍNEZ FERRER, MT. (2003). *Biología y control del cotonet Planococcus citri (Homoptera: Pseudococcidae) en huertos de cítricos* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- MAZZEO, G; RUSSO, A Y SUMA, P. (1999). *Phenacoccus solani* Ferris (Homoptera: Coccoidea) on ornamental plants in Italy. *Boll. Zool. Agrar. Bachic*, 31: 31-35.
- MAZZEO, G; FRANCO, JC Y RUSSO, A. (2009). A new Paracoccus species from Palaearctic region (Hemiptera, Sternorrhyncha, Coccoidea, Pseudococcidae). *Zootaxa*, 2274: 62-68.
- MAZZEO, G; LONGO, S; PELLIZARI, G; PORCELLI, F; SUMA, P Y RUSSO, A. (2014). Exotic Scale Insects (Coccoidea) on Ornamental Plants in Italy: a Never-Ending Story. *Acta Zool Bulg*, 6: 55-61.
- MCKENZIE, HL. (1967). *Mealybugs of California: With taxonomy, biology, and control of North American species (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae)*. Berkeley: University of California Press, United States.
- MENDEL, Z; BLUMBERG, D Y WYSOKI, M. (1992). Biological control of four Homopterans in Israeli horticulture: Achieves and problems. *Phytoparasitica*, 20: 49.
- MILEK, TM Y PELLIZZARI, G. (2016). The invasive mealybug *Paracoccus burnerae* expands its range: new distribution and host-plant records. *Bulletin of Insectology*, 69(2): 225-228.
- MILLER, DR. (2005). Selected scale insect groups (Hemiptera: Coccoidea) in the southern region of the United States. *Fla Entomol*, 88: 482-501.
- MILLER, DR Y GILIOMEE, JH. (2011). Systematic revision of the mealybug genus *Delottococcus* Cox & Ben-Dov (Hemiptera: Pseudococcidae). *African Entomology*, 19(3): 614-640.
- MILLER, DR; MILLER, GL Y WATSON, GW. (2002). Invasive species of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) and their threat to U.S. agriculture. *Proc Entomol Soc Wash*, 104: 825-836.
- MOGHADDAM, M. (2013). A review of the mealybugs (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae, Putoidae and Rhizoecidae) of Iran, with descriptions of four new species and three new records for the Iranian fauna. *Zootaxa*, 3632(1): 1-107.

- MOGHADDAM, M Y ESFANDIARI, M. (2014). A new species of the genus *Paracoccus* (Hem.: Cocomorpha: Pseudococcidae) from Iran. *Journal of Entomological Society of Iran*, 34(3): 57-61.
- MOORE, D. (1988). Agents used for biological control of mealybugs (Pseudococcidae). *Biocontrol News and Information*, 9: 209-225.
- MOORE, SD Y KIRKMAN, W. (2005). A survey of the mealybug species complex on citrus in South Africa. CRI Group Research Reports. Citrus Research International, Nelspruit, South Africa.
- MORENO, J. (2011). *Prospección e identificación de cochinillas algodonosas (Hemiptera: Pseudococcidae) y búsqueda de parasitoides asociados en cultivos hortícolas protegidos del poniente almeriense*. (Degree Thesis, Universidad de Almería).
- MUTURI, SM; WACHIRA, FN; KARANJA, LS; WAMBULWA, MC Y MACHARIA, E. (2013). *Paracoccus burnerae* (Homoptera; Planococcidae) as a vector of *banana streak virus*. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 1: 405-414.
- PANIS, A. (1986). Biological features of *Pseudococcus affinis*, (Maskell) (Homoptera: Pseudococcidae) as a guideline of its control in water-sprinkled citrus orchards. In: *Proceedings, Integrated Pest Control in Citrus Groves* (pp 59-65). Balkema, Netherlands.
- PANIS, A. (1969). Observations faunistiques et biologiques sur quelques Pseudococcidae (Homoptera, Coccoidea) vivant dans le midi de la France. *Ann. Zool. Ecol. Anim*, 1: 211-244.
- PELLIZZARI, G. (2005). Cocciniglie nuove o poco note potenzialmente dannose per l'Italia: *Fiorinia pinicola* Maskell, *Pseudococcus comstocki* (Kuwana), *Peliococcus turanicus* (Kiritshenko). *Inf. Fitopatol*, 55: 20-25.
- PELLIZZARI, G Y GERMAIN, J. (2010). Scales (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). *BioRisk*, 4(1): 475-510.
- RAMOS, G. (2003). *Descripción de los caracteres morfológicos externos del adulto hembra de Pseudococcus calceolariae Maskell (Sternorrhyncha: Pseudococcidae)*. (Degree Thesis, Universidad Nacional de Colombia).
- SCOTT, FM; SCHROEDER, MR Y TURREIX, FM. (1945). Development, cell shape, suberization of internal surface and abscission in the leaf of Valencia orange (*Citrus sinensis*). *Bot. Gaz*, 109: 381-411.
- SHARON, R; ZAHAVI, T; SOKOLSKY, T; SOFER-ARAD, C; TOMER, M; KEDOSHIM, R Y HARARI, AR. (2016). Mating disruption method against the vine mealybug, *Planococcus ficus*: effect of sequential treatment on infested vines. *Entomol Exp Appl*, 161: 65-69.
- SOTO, A; MARTÍNEZ-BLAY, V; BELTRÀ, A; PÉREZ-RODRÍGUEZ, J Y TENA, A. (2016). *Delottococcus aberiae* (De Lotto) (Hemiptera: Pseudococcidae), comportamiento de la plaga en parcelas de cítricos valencianos. *Phytoma*, 277: 49-53.
- SYVERTSEN, JP; SMITH JR, ML Y ALLEN, JC. (1981). Growth rate and water relations of citrus leaf flushes. *Annals of botany*, 47(1): 97-105.
- TENA, A Y GARCÍA-MARÍ, F. (2011). Current situation of citrus pests and diseases in the Mediterranean basin. *IOBC wprs Bulletin*, 62: 365-378.

- TENA, A; SOTO, A Y GARCÍA-MARÍ, F. (2008). Parasitoid complex of black scale *Saissetia oleae* on citrus and olives: parasitoid species composition and seasonal trend. *Bio- Control*, 53: 473-487.
- TRIAPITSYN, SV; GONZÁLEZ, D; VICKERMAN, DB; NOYES, JS Y WHITE, EB. (2007). Morphological, biological, and molecular comparisons among the different geographical populations of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of *Planococcus* spp. (Hemiptera: Pseudococcidae), with notes on *Anagyrus dactylopii*. *Biological Control*, 41(1): 14-24.
- URBANEJA, A; GROUT, TG; GRAVENA, S; WU, F; CEN, Y Y STANSLY, PA. (2020). Citrus pests in a global world. In: *The Genus Citrus* (pp. 333-348). Woodhead Publishing, UK.
- VITULLO, J; ZHANG, A; MANNION, C Y BERGH, JC. (2009). Expression of Feeding Symptoms from Pink Hibiscus Mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) by Commercially Important Cultivars of Hibiscus. *Fla Entomol*, 92: 248-254.
- WALTON, VM; DAANE, KM; BENTLEY, WJ; MILLAR, JG; LARSEN, TE Y MALAKAR-KUENEN, R. (2006). Pheromone-Based Mating Disruption of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) in California Vineyards. *J Econ Entomol*, 99: 1280-1290.
- WAKGARI, WM Y GILIOMEE, JH. (2003a). The biology of three mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) found on citrus in the Western Cape Province, South Africa. *African Entomology*, 11: 173–182.
- WAKGARI, WM Y GILIOMEE, JH. (2003b). Natural enemies of three mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) found on citrus and effects of some insecticides on the mealybug parasitoid *Coccidoxenoides peregrinus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in South Africa. *Bulletin of Entomological Research*, 93(3): 243-254.
- WAKGARI, WM Y GILIOMEE, JH. (2004). Mealybugs and their parasitoids in apple and pear orchards in the Western Cape Province, South Africa. *African Plant Protection*, 10: 7-11.
- WAKGARI, WM Y GILIOMEE, JH. (2005). Description of adult and immature females of six mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) found on citrus in South Africa. *African Entomology*, 13(2): 281-332.
- WILLIAMS, DJ; GULLAN, PJ; MILLER, DR; MATILE-FERRERO, D Y HAN, SH. (2011). A study of the scale insect genera *Puto* Signoret (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea: Putoidae) and *Ceroputo* Šulc (Pseudococcidae) with a comparison to *Phenacoccus* Cockerell (Pseudococcidae). *Zootaxa*, 2802: 1-22.

## **ANEXO 1**

Tabla 1. Ilustraciones de los distintos tipos de sustratos sobre los que se ha realizado el recuento de la población de *Paracoccus burnerae* en campo.

Hoja Refugio	
Hoja Pinzada	
Fruto	
Brote	