



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS  
DE HIDALGO  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS Y  
FORESTALES



**Monitoreo de la resistencia de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos y parasitismo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae)**

TESIS

QUE PRESENTA:

**SAÚL PARDO MELGAREJO**

Como requisito para obtener el grado de:

**Maestro en Producción Agropecuaria**

Opcion temrminal: Agricola

Director:

Dr. Samuel Pineda Guillermo

Co- directora:

Dra. Ana Mabel Martínez Castillo

Morelia Michoacán, noviembre de 2015

## **AGRADECIMIENTOS**

A la máxima casa de estudios, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por abrirme sus puertas para seguir mis estudios de posgrado.

Al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por aceptarme como alumno y permitirme realizar el proyecto titulado: **Monitoreo de la resistencia de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos y parasitismo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae).**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado la beca como apoyo económico durante dos años.

A la Coordinación de la Investigación Científica-UMSNH, por haber financiado la esta investigación por medio del siguiente proyecto:

**Biología, parámetros biológicos y parasitoides de la mosca de las alas manchadas, *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae), plaga de reciente introducción en el estado de Michoacán.**

Al Consejo Estatal de Ciencia, Tecnología e Innovación de Michoacán por ser parte del financiamiento de la investigación realizada, por medio del proyecto:

**Respuesta del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama, a tres insecticidas químicos y determinación de la biología y capacidad depredadora de *Engytatus* sp. sobre el psílido del tomate, *Bactericera cockerelli* (Sulc).**

A mi asesor, el Dr. Samuel Pineda Guillermo, por sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación que han sido fundamentales para mi formación como investigador.

A mis sinodales:

Dra. Ana Mabel Matínez Castillo, Dr. José Isaac Figueroa de la Rosa, Dr. Ángel Rebollar Alviter, Dr. Mario Alberto Miranda Salcedo, por sus valiosas observaciones en el desarrollo de este proyecto de investigación.

## *DEDICATORIAS*

A dios por permitirme llegar hasta donde ahora me encuentro, con su apoyo espiritual todo fue posible.

A mis padres, Bertha Alicia Melgarejo Riegos, Manuel Pardo Plancarte, por haberme brindado su apoyo moral, económico, incondicionalmente en todo momento, y sus valiosos consejos y por el amor que me tienen.

A mi hermano Manuel Pardo Melgarejo, quien a parte de ser mi hermano, es mi mejor amigo, y me ha brindado los mejores consejos y siempre eh tenido su apoyo incondicional en todos los aspectos.

A mis compañeros del laboratorio de Entomología Agrícola, al M.C. Juan Manuel Chavarrita, por su invaluable apoyo en los momentos de colectas de campo, así como su valiosa amistad, Al M.C. Sinue Isabel Morales, M.C. Mirella Espino, M.C. Norma Zamora, M.C. Yadira Maibeth, Biol. Laura Veronica Mena, Biol. Diana Vely García, por brindarme su amistad y su valioso apoyo cuando lo necesité, de quienes me llevo un bonito recuerdo y jamas olvidaré.

## INDICE

NOTA AL LECTOR .....	6
RESUMEN .....	9
ABSTRACT .....	10
<b>1.- INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>11</b>
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1 <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama: Origen y distribución.....</b>	<b>13</b>
2.1.3 Ciclo de vida y morfología .....	13
2.1.4 Plantas hospederas.....	16
2.1.5 Tipos de daños.....	16
2.1.6 Métodos de control.....	17
<b>2.2 <i>Tamarixia radiata</i> .....</b>	<b>22</b>
2.2.1 Clasificación de <i>T. radiata</i> .....	23
2.2.2 Clasificación taxonómica de <i>T. radiata</i> .....	23
2.2.3 Hospederos de <i>T. radiata</i> .....	23
2.2.4 Biología de <i>T. radiata</i> .....	23
2.2.5 Ciclo de vida de <i>T. radiata</i> .....	24
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>27</b>
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>27</b>
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>5.1 Colecta de insectos.....</b>	<b>28</b>
<b>5.2 Insecticidas.....</b>	<b>30</b>
<b>5.3 Bioensayos.....</b>	<b>30</b>
5.3.1 Monitoreo de resistencia en adultos.....	30
5.3.2 Monitoreo de resistencia en ninfas .....	31
<b>5.4 Parasitismo de <i>T. radiata</i> .....</b>	<b>31</b>
<b>5.5 Análisis de datos.....</b>	<b>32</b>
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>34</b>
<b>6.1 Monitoreo de resistencia en adultos .....</b>	<b>34</b>
<b>6.2 Monitoreo de resistencia en ninfas.....</b>	<b>36</b>
<b>6.3 Parasitismo de <i>T. radiata</i> .....</b>	<b>37</b>
<b>7. DISCUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
<b>7.1 Monitoreo de la resistencia .....</b>	<b>39</b>
<b>7.2. Parasitismo de <i>T. radiata</i> .....</b>	<b>42</b>
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>9. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>48</b>

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>D. citri</i> de huevo-adulto.....	14
Figura 2. Ciclo de vida de <i>T. radiata</i> .....	21

## INDICE DE CUADROS

Cuadro1. Ubicación de los sitios de colecta de las poblaciones de campo de ninfas y adultos de <i>D. citri</i> .....	29
Cuadro 2. Regresión probit 72 h. Mortalidad de adultos de <i>D. citri</i> .....	35
Cuadro 3. Regresión probit 24 h. Mortalidad de ninfas de <i>D. citri</i> .....	36
Cuadro 4. Porcentajes de parasitismo natural en sitios en el Valle de Apatzingán .....	38

## NOTA AL LECTOR

El programa de Maestría en Producción Agropecuaria, sancionado por el H. consejo Universitario con fecha 15 de Marzo de 2013; establece los lineamientos para su operación en su plan de estudios. Determinando en el artículo 28 de las reglas complementarias los requisitos para la obtención del grado que a la letra dice:

*Artículo 28. Requisitos para la obtención del grado. Se otorgará el grado de “Maestría en Producción Agropecuaria”, con cualquiera de las siguientes opciones: “Agrícolas”, “Pecuaria”, “Forestal”, “Acuícola” o “Agronegocios” al alumno que cumpla con lo establecido en el artículo 71 del Reglamento General de Estudios de Posgrado y con los siguientes requisitos:*

- a) Haber cubierto la totalidad de los créditos.*
- b) Haber entregado y defendido el proyecto de Tesis el cual se define de la siguiente manera*
- c) PROYECTO TERMINAL (TESIS). Es un informe académico que se deriva de los estudios realizados y, de acuerdo con el CONACYT (2006), es de carácter profesional, docente o empresarial, en el que el estudiante debe demostrar el dominio de las competencias adquiridas. Es un informe producto del trabajo que puede ser de carácter profesional, experimental o empresarial, según la modalidad escogida por el estudiante (ver anexo 2), donde tiene que demostrar el dominio de las competencias adquiridas en el programa de la maestría y deberá responder a una problemática relacionada con el área y relevante en nuestro contexto a la cual contribuya a solucionar.*

A su vez el anexo 2 de dicho plan de estudios es más específico al explicar las alternativas para la realización del proyecto de tesis, como a continuación se describe:

### *Anexo 2*

#### *Alternativas para la realización del proyecto de tesis del PMPA*

*Debido a la diversidad de opciones y a los requerimientos de flexibilización de los planes de estudio de esta maestría, se plantean diferentes modalidades para el desarrollo del Proyecto*

*de Tesis, el cual busca dar respuesta a las demandas del campo productivo, así como a los intereses y aptitudes del estudiante.*

*El objetivo de este anexo es clarificar las características generales de cada modalidad que sirvan de guía para que a los Comités Revisores, conformados adhoc, quienes delimitaran los requisitos, exigencias, aspectos a abordar y los estándares mínimos de calidad requeridos. El proyecto de tesis podrá realizarse a través de alguna de las siguientes opciones:*

### **1. ESTUDIO DE CASOS**

*Es un análisis de una entidad, fenómeno o unidad social de naturaleza particularista, descriptiva y heurística, basada en el razonamiento inductivo. Es particularista porque se centra en una situación, evento o fenómeno específico, el cual en sí mismo es importante por lo que revela del fenómeno y lo que pueda representar. Es descriptivo, porque el producto final es una representación rica y densa del fenómeno a investigar y es heurística, porque ilumina la comprensión del lector del fenómeno objeto de estudio, lo que puede llevar a descubrir nuevos significados, ampliar la experiencia o confirmar lo que se sabe (Pérez 2001). El estudio de casos puede ser de una empresa, de una actividad productiva, etc.*

*Los estudios de casos cualitativos son estudios que involucran la exploración detallada a lo largo de un periodo de tiempo, lo suficientemente extenso, que permita el entendimiento profundo del objeto de estudio y del contexto en que este se ubica, por medio de métodos múltiples de recolección de datos y múltiples fuentes de información altamente contextualizadas (Cresswell 1998). Es aplicable en innumerables campos donde se trate de combinar eficazmente la teoría de la práctica.*

### **2. ESTUDIOS ECONOMICOS**

*Los estudios de este tipo son componentes importantes de la investigación acerca de la efectividad y establecimiento de políticas en los niveles federal, estatal y local en diversos tipos de sistemas educativos. Su propósito es entender los efectos de reformas o políticas en relación con sus costos, contribuciones de la educación al crecimiento económico y al desarrollo, así como acerca del entorno no monetario en educación (Coombs 1994).*

### **3. PROYECTOS DE DESARROLLO TECNOLOGICO**

*Estos proyectos involucran un proceso de cambio, por medio del cual se intenta alcanzar los objetivos de la actividad productiva con los más altos niveles de logro. Se caracterizan por realizar una descripción especializada de un caso, organizado de acuerdo con las líneas del posgrado. Los aspectos básicos que debe contener el análisis serán: describir el contexto situacional del caso, los*

*principales factores involucrados, los conceptos que se aplican con base en las perspectivas disciplinares actuales, la explicación de los elementos que justifiquen el qué, cómo y cuándo de la problemática, la delimitación de la problemática analizada donde se deben definir sus fronteras e identificar los factores o variables que ocasionan obstáculos en el desarrollo de la institución; así como el análisis de las interrelaciones de los factores o variables seleccionadas.*

#### **4. DISEÑO, DESARROLLO Y VALIDACION DE INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN Y MEDICIÓN PRODUCTIVA**

*Consiste en el diseño, desarrollo y validación de un instrumento, técnica o estrategia de evaluación y medición, con sus propiedades, limitaciones y fortalezas reportadas; así como sus indicadores de confiabilidad y validez.*

#### **5. PROGRAMAS DE PREVENCIÓN E INTERVENCIÓN**

*Consiste en el proyecto de atención, solución y prevención de problemas productivas, documentados a través de acciones que evidencien la adquisición de conocimientos, habilidades y actitudes durante el programa de estudio. Será necesario implementar el proyecto (aun en fases piloto o preliminares) y evaluar sus resultados.*

#### **6. OTROS**

*Cualquier otro proyecto propuesto del estudiante por el visto bueno de su asesor, aprobado por el Comité tutorial.*

Por tanto este documento podrá ser de la naturaleza descrita con antelación y con ello cumplir con el objetivo y el enfoque Profesionalizante del Programa.

***La Coordinación Académica del Programa de Maestría en Producción Agropecuaria con opción terminal en el Área: Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuícola y Agronegocios.***



## RESUMEN

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es una de las plagas más importantes del cultivo de los cítricos en todo el mundo, que transmite el agente causal del Huanglongbing o HLB de los cítricos. Se monitoreó la resistencia de tres poblaciones (Dci-Antúnez, Dci-CParácuaro y Dci-El Junco) de adultos y ninfas de *D. citri*, colectadas en el Valle de Apatzingán, Michoacán, hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos. Dos poblaciones de adultos (Dci-CParácuaro y Dci-El Junco), colectadas en el mes de noviembre, y una de ninfas (Dci-El Junco), colectada en el mes de agosto, mostraron baja, pero significativa, resistencia hacia bifentrina, con proporciones de resistencia (PR) entre 5-7 comparado con la población susceptible. En contraste, con excepción de la población Dci-El Junco colectada en el mes de junio, las tres poblaciones de adultos y ninfas mostraron significativa resistencia a malation (PR entre 145-343 para adultos y 310-432 para ninfas) y clorpirofos (PR entre 1175-2425 para adultos y 405-1412 para ninfas). En la segunda parte de este estudio, se determinó, en diferentes fechas de colecta, el parasitismo natural de *Tamarixia radiata* Waterston (Hemiptera: Eulophidae) sobre ninfas de *D. citri* en cinco sitios, incluidos los tres donde se realizó el estudio de resistencia. Solo se observó parasitismo sobre las ninfas de tercero (hasta 2.3%), cuarto (hasta 29%) y quinto (hasta 7%) instar. Se propone establecer un programa de manejo de la resistencia que conserve al parasitoide *T. radiata* con objetivo de mantener bajas las poblaciones de *D. citri*.

**Palabras clave:** psílido asiático de los cítricos, proporción de resistencia, Valle de Apatzingán, parasitoide sinovigénico, piretroides, organofosforados.

## ABSTRACT

The Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) is one of the most important pest of citrus crops worldwide that transmits the causal pathogen Huanglongbing. The resistance of three populations of adults and nymphs of *D. citri* (Dci- Antúnez, Dci- CParácuaro, Dci- El Junco) to bifenthrin, malathion, and clorpirifos, collected in the Valley of Apatzingán, Michoacán, was monitored in this study. Two populations of adults (Dci- CParácuaro and Dci-El Junco), collected in November, and one of the nymphs (Dci-El Junco), collected in August, showed low but significant resistance to bifenthrin, with resistance ratios (RR) between 5-7 compared with the susceptible population. In contrast, with exception to Dci-El Junco population collected in June, all the three populations of adults and nymphs showed significant resistance to malathion (RR between 145-343 for adults and 310-432 for nymphs) and clorpirofos (RR between 1175-2425 for adults and 405-1412 for nymphs). In the second part of this study, the natural parasitism of *Tamarixia radiata* Waterston (Hemiptera: Eulophidae) was determined at different dates of collection on nymphs of *D. citri* in five sites, including the three where insecticide resistance was monitored. Parasitism was only observed on third instar nymphs (up to 2.3%), fourth (up to 29%) and fifth (up to 7%). The establishment of a management resistance program is proposed that preserves the parasitoid *T. radiata* and that maintaining low the *D. citri* populations.

**Key words:** Asian citrus psyllid, resistance ratio, Valle de Apatzingán, sinovigenic parasitoid, pyrethroids, organophosphates

## 1.- INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, México ocupa el quinto lugar en la producción de cítricos (*Citrus* sp.) con más de 550 mil ha de las cuales se obtienen más de 8.5 millones de toneladas de producción cada año. El estado de Michoacán, ocupa el tercer lugar en producción de estos cultivos con 47 mil ha que se concentran en el Valle de Apatzingán, el cual comprende los municipios de Buenavista, Apatzingán, Múgica, Parácuaro, Tepalcatepec, La Huacana y Lombardía (SIAP 2014).

Actualmente, el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es la plaga más importante de los cítricos en todas las regiones del mundo (Tiwari *et al.* 2011a, Tiwari *et al.* 2012). Este insecto tiene la capacidad de transmitir a la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, la cual está asociada con una de las enfermedades más destructivas de los cítricos, el Huanglongbing (HLB) o dragón amarillo (Bové 2006). En el continente Americano, el HLB se reportó por primera vez en Brasil en 2004. En México, esta enfermedad se detectó por primera vez en los municipios de Tizimín, Yucatán y Lázaro Cárdenas, Quintana Roo (Torres *et al.* 2013).

El control químico se mantiene como el método más práctico para reducir las poblaciones de *D. citri* en México; sin embargo, el uso excesivo de insecticidas sintéticos genera problemas de resistencia y daños al medio ambiente, por lo que existe una desaprobación pública generalizada (Cortéz *et al.* 2010). Tradicionalmente, para el manejo de *D. citri*, los agricultores realizan hasta dos aplicaciones por mes de insecticidas de amplio espectro, tales como imidacloprid, tiametoxam, bifentrina, dimetoato y malation, pero el control no es efectivo debido a la alta capacidad del insecto para desarrollar resistencia hacia algunos de estos compuestos (Cortéz y López 2012).

*Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) es una alternativa para disminuir las poblaciones de *D. citri*. *Tamarixia radiata* es un ectoparásitoide, sus larvas se alimentan de las ninfas de *D. citri* y pupan entre la superficie de la hoja y el cuerpo del hospedero. Los adultos emergen, por la parte dorsal del tórax, a través del integumento del huésped o momia. Las hembras de *T. radiata* se alimentan de la hemolinfa de sus hospederos

de donde obtienen proteínas para la maduración de sus huevos; esto también contribuye a la mortalidad de las ninfas de *D. citri* (Cermeli *et al.* 2009).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 *Diaphorina citri* Kuwayama: Origen y distribución

*Diaphorina citri* es una de las plagas más serias de los cítricos a nivel mundial, debido a que transmite a una de las enfermedades más devastadoras para los cítricos a nivel mundial: el Huanglongbing o también conocida comúnmente como dragón amarillo. Entre 1960 y 1970 esta enfermedad causó la muerte de alrededor de 3 millones de árboles en Asia y 10 millones en África del sur (Garnier 2000).

El psílido asiático de los cítricos es originario de Oriente y se describió por primera vez en Taiwán en 1907 (Halbert y Manjunath 2004). Este insecto está ampliamente distribuido en todo el suroeste de Asia y tiene una amplia distribución en el continente Americano. En 1942 se reportó, en Costa Rica, en 1984 en Argentina, posteriormente, en 2004, se registró en Uruguay, Belice, Cuba, y Brasil (da Graca 1991, Halbert y Manjunath 2004), Honduras, Islas Guadalupe, Puerto Rico, Venezuela, Argentina y Estados Unidos (Étienne *et al.* 2001, Cermeli *et al.* 2000, González *et al.* 2003, Halbert y Manjunath 2004, Richard *et al.* 2005).

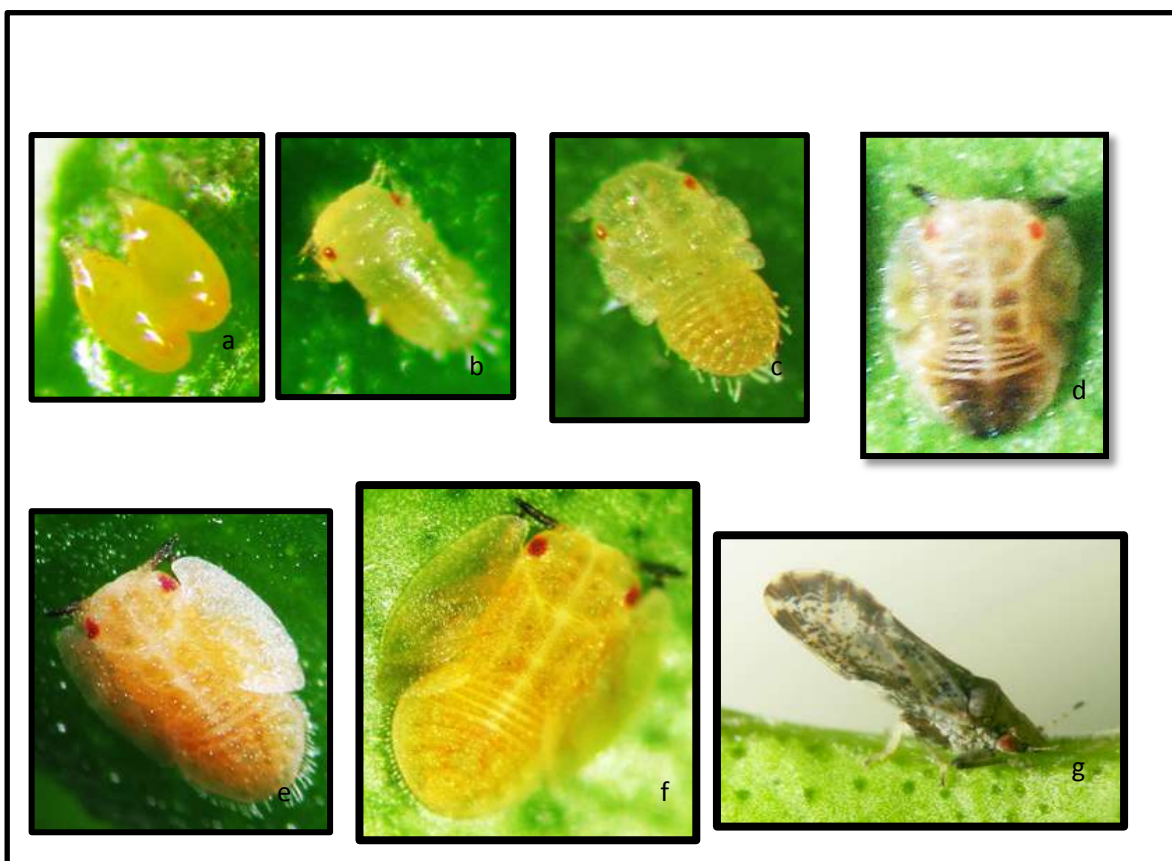
En México, *D. citri* se encontró por primera vez en el año 2002 en los estados de Campeche y Quintana Roo (Martínez y Cortéz 2008) y en 2008 se detectaron especímenes en Tijuana y Baja California. En el estado de Michoacán, esta plaga se registró en 2006 en el municipio de Tepalcatepec, en el Valle de Apatzingán (Martínez 2008, López *et al.* 2010).

#### 2.1.1 Ciclo de vida y morfología

En condiciones de campo, la duración del ciclo de vida de *D. citri* es de 14 y 49.3 días, a 28°C y 15°C, respectivamente, las temperaturas de 25 y 28°C son las más adecuadas para su desarrollo, mientras que a temperaturas inferiores de 10°C y superiores de 33°C no se desarrolla (Geiger y Gutiérrez 2000). *Diaphorina citri* presenta un pico poblacional al final de la primavera e inicios de verano, que coincide con la aparición de nuevos brotes vegetativos en

los cultivos de cítricos (García 2009). *Diaphorina citri* tiene un desarrollo hemimetábolo que comprende los estados de huevo, ninfa y adulto, los cuales se describen a continuación:

**Huevo:** Los huevos son de forma ovoide, alargados, con prolongación en uno de sus extremos; recién depositados son de color amarillo claro y se tornan a brillante anaranjados, miden aproximadamente 0.3 mm de longitud y 0.1mm de ancho (Figura 1A). Los huevos son colocados generalmente en el extremo de los brotes tiernos, sobre y entre las hojas desplegadas (García 2009).



**FIGURA 1.** Estado de vida de *D. citri*. a: huevo; b: ninfa primer instar; c: ninfa segundo instar; d: ninfa tercer instar; e: ninfa cuarto instar; f: ninfa quinto instar g: adulto.

**Primer instar:** Las ninfas de primer instar (N1) son generalmente de color amarillo, su cuerpo es elongado con antenas de 2 segmentos relativamente largos, cada segmento mide aproximadamente 0.02 y 0.04 mm, con un sensorio; patas segmentadas, tibio-tarsos con dos

uñas; el margen del abdomen con 7 pares de cerdas, la ninfa N1 mide 0.33 mm de longitud y 0.35 mm de ancho, la antena mide 0.06 mm (EPPO 2005) (Figura 1b).

**Segundo ínstar:** Las ninfas de segundo ínstar (**N2**) son generalmente de una coloración amarilla, este ínstar contiene dos segmentos antenales cada uno mide 0.02 y 0.06, con un sensorio y una seta capitada; el abdomen con rayas esclerosadas y en la base una placa larga apical con un margen de 7-8 pares de cerdas (EPPO 2005). El segundo ínstar ninfal mide 0.45 mm de largo y 0.25mm de ancho con esbozos alares visibles en el dorso del tórax y de 0.08 mm de larga la antena (García 2013a) (Figura 1c).

**Tercer ínstar:** Las ninfas de tercer ínstar (**N3**) son generalmente de color amarillento, las antenas y el abdomen son de color pardo amarillento; antenas de dos segmentos cada uno de 0.7 mm y con dos sensores en el segundo segmento; alas aplanadas, desarrolladas y superpuestas; placa apical del abdomen con 15-17 pares de cerdas (EPPO 2005). El tercer ínstar tiene una medida de 0.74 mm de longitud y 0.43 mm de ancho con los segmentos alares desarrollados y los segmentos antenales visibles (García 2013a) (Figura 1d).

**Cuarto ínstar:** Las ninfas de cuarto ínstar (**N4**) de *D. citri* son de color amarillento tornando a color café, tienen antenas de 3 segmentos, cada segmento mide aproximadamente alrededor de 0.09 mm, con tres setas sensoriales y dos espinas, contiene una placa apical en el abdomen y el margen con 27-30 pares de cerdas (EPPO 2005). El cuarto ínstar ninfal mide 1.01 mm de longitud y 0.70 mm de ancho, los esbozos alares son de mayor tamaño (García 2013a) (Figura 1e).

**Quinto ínstar.** Las ninfas de quinto ínstar (**N5**) representan el último ínstar ninfal. Es diferente a los demás, ya que la forma de su cuerpo es ovalada y mide 1.2 veces más de largo que de ancho, es generalmente de color amarillo-pardo, el tercer segmento antenal es negro, los escleritos y las alas están punteadas. Las patas son relativamente pequeñas, tiene cuatro segmentos y un tarso con dos uñas, tiene una seta ensanchada de la parte superior. Abdomen con rayas esclerosadas. Contiene una placa apical y en el margen con 25 a 29 pares de cerdas

(EPPO 2005). El último ínstar ninfal mide 1.60 mm de longitud y 1.02 mm de ancho (Tsai *et al.* 2000) (Figura 1f).

**Adulto:** El adulto presenta un cuerpo de color marrón que puede medir entre 3 y 4 mm. Los machos son más pequeños que las hembras y con la punta del abdomen roma, mientras que el abdomen de la hembra termina con una punta marcada. El tamaño promedio de los machos es de 2.7 mm de largo y 0.8 mm de ancho, en tanto que el de las hembras es de 3.3 mm de largo y 1 mm de ancho. Generalmente, se encuentran en posición inclinada, con la parte posterior del cuerpo hacia arriba. Los adultos tienen poca capacidad de mantener vuelos muy largos; cuando son molestados saltan rápidamente (García 2009) (Figura 1g).

### **2.1.2 Plantas hospederas**

*Diaphorina citri* tiene preferencia por las plantas de la familia de las Rutáceas, entre ellas, limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Christmann), naranja agria (*Citrus aurantium* L.), pomelo (*Citrus paradisi* Macfadyen) y lima (*Citrus limon* (L.) Burm). También tiene hospederos alternos como limonaria (*Murraya paniculata* (L.) Jack), misma que se utiliza como planta ornamental en parques, plazas y jardines (García 2009).

### **2.1.3 Tipos de daños**

*Diaphorina citri* provoca dos tipos de daños a las plantas en las que se hospeda: directo e indirecto. El daño directo es causado por las ninfas y adultos al alimentarse de brotes tiernos ya que extraen grandes cantidades de savia, lo que debilita a la planta y causa la deformación y pérdida de brotes, disminuyendo la producción. El daño indirecto también lo causan las ninfas y adultos al secretar mielecilla que se convierte en un sustrato favorable para el desarrollo de hongos. Otro daño indirecto está relacionado con la transmisión de la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, causante de la enfermedad del HLB, conocida comúnmente como dragón amarillo (Alemán *et al.* 2007). Las plantas infectadas con esta bacteria no viven más de 5 a 8 años.



El HLB está ampliamente distribuido por el mundo. En China provocó la eliminación de 960,000 plantas de mandarina y limón, lo que disminuyó la producción regional de 450,000 a sólo 5,000 toneladas anuales (Robles *et al.* 2013). En Filipinas, siete millones de árboles se vieron afectados por dicha enfermedad, lo que provocó una disminución del 60% de la zona citrícola del país (Suarez 2015). En el continente Americano, el HLB se reportó por primera vez en Brasil en 2004. En Florida, Estados Unidos, las pérdidas fueron del orden de 6.3 millones de dólares. En México esta enfermedad se detectó por primera vez en Yucatán y Quintana Roo (Torres *et al.* 2013). Desde su aparición, el HLB ha provocado la pérdida de 629 000 toneladas de cítricos en México, incluyendo el estado de Michoacán, lo que corresponde a una pérdida económica de más de 18 millones de pesos (Holguín *et al.* 2012, Trujillo *et al.* 2008).

La utilización de programas de aplicaciones químicas para controlar al vector, en conjunto con la producción de plantas certificadas bajo condiciones de invernadero con control fitosanitario, y la eliminación de árboles infectados con el HLB, han sido las tácticas utilizadas por las instituciones gubernamentales de Fitosanidad en México para disminuir la dispersión del HLB en las zonas citrícolas del país (Trujillo *et al.* 2008).

#### **2.1.4 Métodos de control**

##### **Control biológico**

Una forma de reducir la aplicación de productos químicos es el control biológico. Esta alternativa de control consiste en disminuir las poblaciones de un insecto plaga utilizando a sus enemigos naturales. El objetivo no es erradicar completamente la plaga, sino mantenerla en índices bajos, que no causen daños económicos y con un enfoque ecológico (Aguilar 1980).

En muchas ocasiones, lo más efectivo es combinar el control químico y el biológico. Para esto, es necesario determinar la compatibilidad entre el enemigo natural y el insecticida, así como entre el insecto plaga y el insecticida, realizando pruebas completas en más de un estado de desarrollo. En el caso de los parasitoides, no sólo el estado adulto puede ser afectado, sino también los otros estados de vida como son huevo, larva y pupa, que se encuentran protegidos, dentro del hospedero (Stapel *et al.* 2000, Tremblay *et al.* 2008). El

efecto letal (la mortalidad) del insecticida sobre el parasitoide ha sido el más frecuentemente evaluado, mientras que otros efectos subletales, como la emergencia, proporción sexual, longevidad y parasitismo, se han subestimado, si bien estos efectos pueden reducir el éxito del agente de control biológico (Arnó *et al.* 2007).

Existe una gran variedad de enemigos naturales que se alimentan de *D. citri*: arácnidos, crisópidos, sírfidos y coccinélidos, siendo éstos últimos los más eficaces para su control. En Cuba, existen diferentes especies de enemigos naturales de *D. citri*, tales como los depredadores *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), *Chilocorus cacti* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), *Scymnus distinctus* Casey (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysopa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae), *Ocyptamus* sp. (Diptera: Syrphidae); el parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) y el hongo entomopatógeno *Hirsutella citriformis* Speare (González *et al.* 2003). En México se identificaron cuatro especies de depredadores de *D. citri*: tres de la familia Coccinellidae (*C. sanguinea*, *Ch. cacti*, *Exochomus cubensis* Dimn, una de la familia Syrphidae (*Ocyptamus* sp.) (Ortega *et al.* 2013). En las islas Guadalupe se ha reportado la presencia del hongo *Hirsutella citriformis* Speare, como único enemigo natural de *D. citri* (Étienne *et al.* 2001).

En 2003, en el estado de Tamaulipas, México, se reportó por primera vez a *Tamarixia* sp., parasitando ninfas N4 y N5 de *D. citri* (Coronado *et al.* 2003). Posteriormente, este parasitoide se identificó como *T. radiata* (González *et al.* 2009). En el Valle de Apatzingán, Michoacán, se ha encontrado a este parasitoide y a los depredadores *Chrysoperla rufilabris* Burmeister (Neuroptera: Chrysopidae), *Hippodamia convergens* Guérin-Ménéville, *Olla v-nigrum* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae), *Zelus renardii* (Hemiptera: Reduviidae) y diferentes especies de arañas no identificadas (Miranda y López 2010, Pardo 2013).

### **Control químico**

El control químico utilizado para el manejo del psílido asiático de los cítricos se dirige principalmente hacia plantas en vivero y a las plantaciones jóvenes, debido a que los árboles de plantaciones de más de diez años soportan mejor los daños causados por este insecto. El

insecticida sistémico Confidor®, cuyo ingrediente activo es el imidacloprid, ha sido uno de los más utilizados. También se ha reportado el uso de otros compuestos, tales como metomil, malation y dimetoato en huertos con bajos niveles de infestación. Además se han probado endrin, diazinon, paration metílico, metyldemeton, tiometon, fosfamidon, monocrotofos, oxydemeton-metyl, fosalone, quinalfos y fosmet. Otros productos utilizados para el control de *D. citri* son los aceites de petróleo, cuya eficacia ha sido probada contra insectos sésiles, los cuales quedan cubiertos por una fina película de aceite y por tanto mueren por asfixia. Se ha observado que la susceptibilidad a los aceites difiere entre los estados de la plaga, siendo los huevos y las ninfas del psílido presentes en los brotes los que sufren una mortalidad más significativa (Alemán *et al.* 2007).

#### **Descripción de los insecticidas y su modo de acción:**

**Malation y clorpirifos.** El malation y clorpirifos pertenecen al grupo toxicológico de los organofosforados, que se encuentran dentro del grupo químico de los compuestos orgánicos derivados de la molécula del ácido fosfórico, este grupo de insecticidas son compuestos muy tóxicos para los vertebrados que el resto de los insecticidas y no son muy persistentes en los sistemas agrícolas. Los Insecticidas químicos del grupo de los organofosforados actúan por ingestión principalmente y en bajo efecto por inhalación, y por contacto por la absorción a través de los lípidos de la cutícula del insecto (Moreno *et al.* 2010, Bisset 2002).

El modo primario de acción del grupo de los insecticidas organofosforados consiste en la inhibición de la acetilcolinesterasa, en las uniones sinápticas por medio de carbamitación o fosforilación en su centro activo (IRAC 2011). Actúan como análogos de la acetilcolina. Los organofosforados forman enlaces covalentes muy estables con la enzima fosforilada, la liberación de esta enzima todavía puede ocurrir pero la reacción es mucho más lenta que con la acetilcolina. Por lo tanto, la acetilcolinesterasa no puede reaccionar eficientemente con la acetilcolina liberada, el transmisor no se restablece y la función del nervio se altera. El grupo de los organofosforados son muy importantes dentro del sistema de producción agrícola debido a que se utiliza para el control de plagas importantes como lo son: mosquita blanca

(*Bemisia tabaci*) y paratrioza (*Bactericera cockerelli*) (Bloomquist 2015., Bisset 2002., EPA 2006).

El malation es un insecticida registrado y utilizado desde 1956 que actualmente se encuentra en el mercado como producto comercial para controlar poblaciones de insectos (EPA 2006), el malation es utilizado desde 1970 por la USDA en el sur de estados unidos para el control del picudo algodonero (*Anthonomus grandis* Boheamn) hasta el 2008 (Villavaso *et al.* 2000). El malation también se utiliza para reducir las poblaciones de plagas en zonas agrícolas y en jardines ornamentales en áreas urbanas, también es utilizado para tratar piojos en humanos, y se utiliza en medicina veterinaria para tratar ectoparásitos como pulgas entre otros, en el área agrícola se utiliza para controlar poblaciones de moscas de la fruta en extensas áreas al aire libre (ATSDR 2001).

El insecticida clorpirifos se descubrió en 1956, es un insecticida-acaricida que tiene modo de acción por ingestión, inhalación y contacto, pertenece al grupo IV (dietoxi), es de toxicidad moderada, es utilizado en la agricultura para controlar poblaciones de insectos y también es utilizado en el hogar para controlar cucarachas (Muñoz 2015). El clorpirifos entra al medio ambiente a través de la aplicación en cosechas, viviendas, etc., el clorpirifos se adhiere firmemente a las partículas del suelo, también entra al medio ambiente a través de volatilización, derrames y disposición de residuos de clorpirifos (ATSDR 1997).

**Bifentrina.** La bifentrina está dentro del grupo toxicológico de los piretroides. Son compuestos químicos sintéticos que se basan estructuralmente en una molécula obtenida de la piretrina, que es naturalmente producida por la planta ornamental *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trevii). Estos compuestos químicos actúan a nivel de la membrada nerviosa, interfiriendo en la conformación de proteínas en la interterfase lípido-proteica, provocando un aletargamiento en el bloqueo de los canales de sodio una vez después de que pasó el impulso (IRAC 2011, EPA 2006).

La química de los piretroides y su modo de acción se encuentra dividida en dos grupos; grupo 1 que incluye a los piretroides que en su composición se encuentra el desciano-3-fenoxibencil u otros alcoholes. Este grupo de compuestos actúan inestablemente en

condiciones ambientales y ésta característica impide la utilización de este grupo en los sistemas de producción agrícola, pero con la complementación de fenoxibencil (permetrina) o ciertos alcoholes halogenados (teflutrina) mejoraron la estabilidad química y permitieron la utilización de este grupo 1 en la agricultura. El grupo 2 contienen en su estructura un alcohol a-ciano-3-fenoxibencil, este incrementa la actividad del insecticida aproximadamente por un factor de 10 (Bisset 2002, Bloomquist 2015).

Los signos de intoxicación del grupo 1 de los piretroides son; hiperexcitación y convulsiones en insectos y temblor en todo el cuerpo en mamíferos. Los insecticidas que pertenecen al grupo 2 causan principalmente ataxia (descoordinación corporal generalizada en el insecto), mientras que en mamíferos provoca coreoatetosis (movimiento involuntario de partes corporales) y también provoca salivación (Bloomquist 2015).

El insecticida bifentrina se utiliza para erradicar colonias de hormigas rojas de fuego importadas, otras especies para las que se utiliza bifentrina son: pulgones, gusanos, hormigas, mosquitos, polillas, escarabajos, saltamontes, ácaros, arañas, garrapatas, avispas, trips, orugas, moscas y pulgas, el insecticida bifentrina tiene una alta actividad lipofílica, lo cual prefiere aceites y tejidos grasos de los insectos, no es muy soluble en agua y permanece adherido a las partículas del suelo, no contamina aguas subterráneas, actúa por contacto e ingestión o por inhalación en los insectos, además de que tiene una baja presión de vapor por lo que los insectos deben entrar en contacto con el producto para causar la su muerte (Domínguez 2003, Lah 2011).

### **Medición de la resistencia en *D. citri***

Los bioensayos de susceptibilidad son herramientas comúnmente utilizadas para la detección de la resistencia en insectos que se encuentran bajo una intensa presión de selección. Estos ensayos se basan en el principio de dosis-mortalidad y usualmente se desarrollan en laboratorio. Existen diversos tipos de bioensayos; la elección del mismo depende del insecto e insecticida a evaluar y el objetivo del mismo. Con este tipo de experimentos se pueden detectar diferencias en susceptibilidad entre una colonia resistente y una susceptible, mediante

la relación de los valores de la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) o concentración letal media ( $CL_{50}$ ), la llamada proporción de resistencia (PR). También permite saber cuántas veces es necesario aumentar la dosis para lograr la mortalidad deseada (50 o 90%, por ejemplo) con respecto a la línea base (valores de susceptibilidad de la población susceptible de laboratorio) (García 2013b).

## **2.2 *Tamarixia radiata***

*Tamarixia radiata* es un ectoparasitoide de *D. citri*. Descrito por primera vez en el noreste de la India (Punjab), lo que hoy en día es Pakistán este parasitoide ha sido introducido de forma deliberada o inadvertidamente a través de Asia y las Américas donde el psílido actualmente ocurre. El interés por *T. radiata* para el control biológico de *D. citri* ha crecido en respuesta a la continua propagación *D. citri* y el Huanglongbing, y las capacidades de búsqueda y colonización evidentes del parasitoide (Chen y Stansly 2014).

Este parasitoide es nativo de la india y fue utilizado en distintas veces por muchos países diferentes para los programas de control biológico clásico y se obtuvieron muy buenos resultados, ya que disminuyó notablemente las poblaciones del psílido asiático de los cítricos *D. citri*, así como la enfermedad que este insecto transmite, *T. radiata* se ha comportado como el parasitoide con mejor resultado, comparado con otros parasitoides como *Diaphorencirtus aligarhensis* también parasitoide de *D. citri*, debido a las altas tasas de parasitación de los ínstars del tercero al quinto del psílido, y la alta capacidad de adaptación en nuevas áreas cítricos y urbanas se le reconoce como el mejor parasitoide (Baños *et al.* 2013).

*Tamarixia radiata* obtiene proteínas para el desarrollo del huevo alimentándose de la hemolinfa de los ínstars del psílido, a los cuales tiene acceso a través del ovipositor (Hoy *et al.* 2006). Una sola hembra de *T. radiata* puede matar hasta 500 psílicos por la combinación de parasitismo y alimentación, las hembras también se alimentan de las melazas excretadas por los psílicos, los adultos son atraídos por las luces con fluorescencia y para la ubicación hospedante las hembras se basan en señales de olfato (Hoy *et al.* 2006, Skelley y Hoy 2004, Mann y Stelinski 2013).

### **2.2.1 Clasificación de *T. radiata***

Waterston (1922) describió originalmente a *T. radiata* en el género *Tetrastichus* como *T. radiatus* bajo la siguiente descripción:

Similar en color y estructura a *Tamarixia dryi* (Waterston), pero se diferencia por poseer las patas claras casi en su totalidad, los fémures posteriores en la mayoría poseen ligeramente un oscurecimiento dorsal. En los machos, los órganos sensoriales se encuentran debajo del borde ventral del escapo y las proporciones de las antenas son generalmente diferentes. Ambos sexos tienen una mancha de color claro en la parte dorsal del abdomen, la cual es probablemente un carácter del grupo (Peña 2012).

### **2.2.2 Clasificación taxonómica de *T. radiata***

**Orden:** Hymenoptera

**Suborden:** Apocrita

**Familia:** Eulophidae

**Subfamilia:** Tetrastichinae

**Género:** *Tamarixia*

**Especie:** *Tamarixia radiata* (Waterstone)

### **2.2.3 Hospederos de *T. radiata***

Según Aubert y Quilici (1984), el único hospedero conocido de *T. radiata* es *D. citri*. Sin embargo, Peter *et al.* (1990) también mencionaron que *T. radiata* es parasitoide de *Pallipsylla hyalina* (Mathur) (Hemiptera: Psyllidae).

### **2.2.4 Biología de *T. radiata***

*Tamarixia radiata* deposita los huevos en la parte ventral cercana a las coxas del segundo y tercer par de patas de las ninfas N3, N4 y N5 de *D. citri*. El huevo es de color amarillo y de

forma ovalada y da lugar a una larva, la cual se alimenta de la ninfa hasta que consume todo el interior de la misma. Las ninfas parasitadas permanecen prácticamente inmóviles y su coloración cambia a pardo rojizo. Al momento de la formación de la pupa, la larva de último instar de *T. radiata*, secreta una sustancia con la cual adhiere a la ninfa hospedera con la hoja; este momento es conocido como período de pre-momificación (Baños 2014).

### **2.2.5 Ciclo de vida de *T. radiata***

**Huevo:** La hembra de *T. radiata* deposita un huevo, sobre las ninfas de tercero, cuarto y quinto instar de *D. citri* (Baños 2014). Los huevos son depositados en la parte ventral, entre el segundo y tercer par de patas, junto a las alas. En ocasiones son depositados dos huevos, pero solamente uno alcanza la etapa de madurez, por lo que a *T. radiata* se le conoce como parasitoide solitario. Una hembra de *T. radiata* puede depositar hasta 300 huevos (Hoy *et al.* 2006). El huevo es de forma ovalada, de color amarillo claro y con la parte terminal adherida al hospedero (Figura 2a).



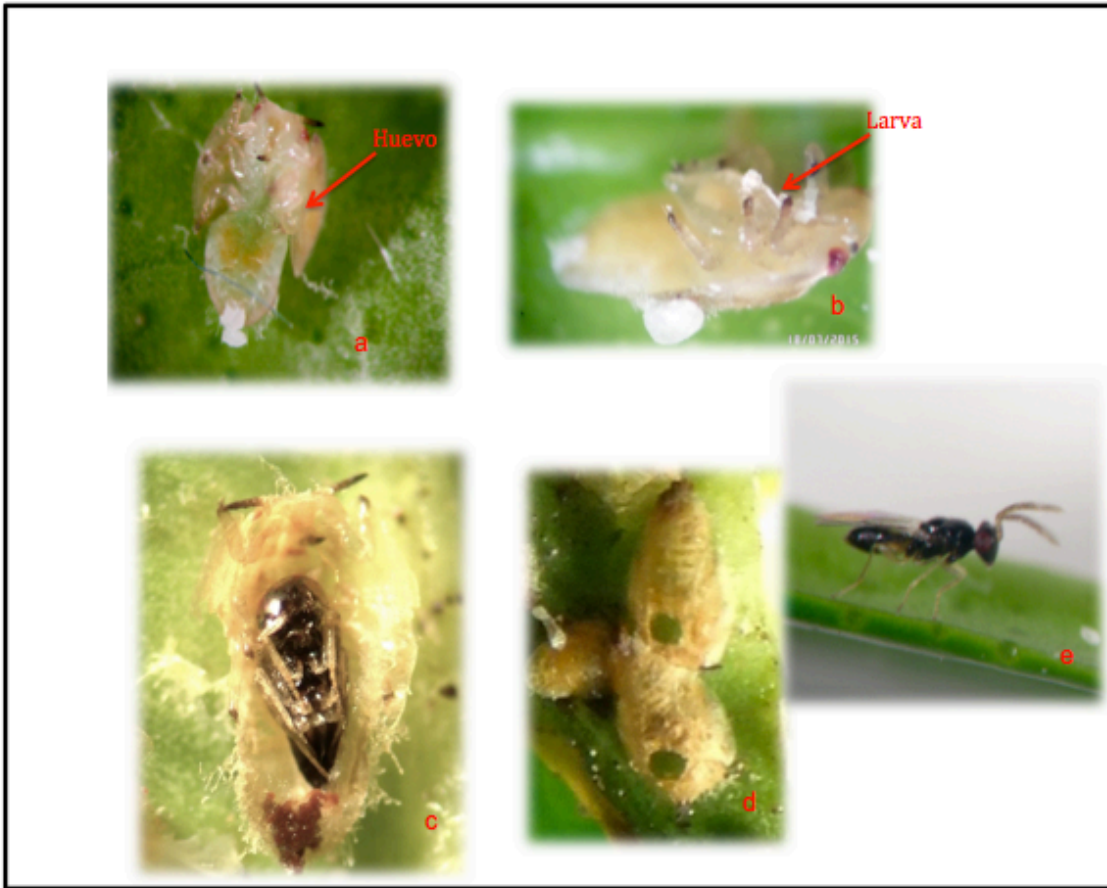


Figura 2: Ciclo de vida de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri*. (a) huevo, (b) larva, (c) pupa, (d) orificio de emergencia del adulto del parasitoide de una ninfa de cuarto ínstar, (e) adulto.

**Larva:** Las larvas recién emergidas de *T. radiata*, se alimentan de la hemolinfa del hospedero, matándolo lentamente, *T. radiata* tiene cuatro ínstars larvarios, cada uno se distingue por el tamaño de la capsula cefálica: 0.06 mm, 0.09 mm, 0.14 mm y 0.22 mm para el 1er, 2do, 3ro y 4to ínstar, respectivamente (Mann *et al.* 2010, Chen y Stansly 2014) (Figura 2b).

**Pupa:** La pupación ocurre entre la ninfa de *D. citri* momificada y el nuevo adulto que sale por el orificio de emergencia que se encuentra localizado en la región torácica de la ninfa momificada la tasa de desarrollo varía con la temperatura, toma aproximadamente unos 12 días en pasar de huevo a adulto (Chen y Stansly 2014, Mann *et al.* 2010) (Figura 2c, 2e).

**Adulto:** Los adultos de *T. radiata* son avispas de color negro y pequeñas (0.92 a 1.04 mm de longitud) con un par de ojos que se encuentran muy separados, su cabeza es más ancha que larga, contiene alas hialinas con bandas de color amarillo pálido, el dimorfismo sexual se diferencia en el macho y la hembra adulta, las antenas de los machos son 1.5 veces más grandes que las de las hembras, los machos son ligeramente más pequeños que las hembras y el ovipositor de la hembra apenas sobresale (Onagbola *et al.* 2009) (Figura 2d).

### 3. HIPÓTESIS

- En condiciones de campo, el psílido asiático de los cítricos, *D. citri*, tiene alta capacidad para desarrollar resistencia hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos, debido a que son utilizados intensivamente para su control.
- En condiciones naturales, *T. radiata* parasita a los diferentes instars ninfales de *D. citri* en huertos de cítricos (*Citrus* sp.) y plantas de limonaria (*M. paniculata*) en el Valle de Apatzingán.

### 4. OBJETIVOS

- Determinar la susceptibilidad, hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos, de adultos y ninfas de distintas poblaciones *D. citri* colectadas en el Valle de Apatzingán, Michoacán.
- Determinar el parasitismo de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* en diferentes sitios del Valle de Apatzingán, Michoacán.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Colecta de insectos

Para determinar la resistencia de ninfas y adultos de *D. citri*, durante los meses de mayo, junio y noviembre de 2014 se colectaron tres poblaciones (Dci-El Junco, Dci-CParácuaro y Dci-Antúnez) de este insecto en cultivos de limón mexicano en el Valle de Apatzingán, Michoacán (Cuadro 1). Para ello, se seleccionaron, y cortaron al azar, varios brotes (~15 cm de largo) infestados con *D. citri*. Del total de brotes se obtuvieron aproximadamente 1500 a 2000 ninfas (primero al quinto ínstar) y adultos de la plaga, que representaron una muestra al azar de la población presente. Para evitar la deshidratación de los brotes, éstos se colocaron en vasos de plástico (3.5 cm de altura x 5 cm de diámetro) que contenían 15 ml de agua, los cuales a su vez se introdujeron en jaulas entomológicas Bugdorm® (Taichung, Taiwán) (30 x 30 x 30 cm). Los insectos se transportaron al Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Los adultos se mantuvieron sobre plantas de limón mexicano (45 cm de altura) dentro de una jaula de madera (50 x 50 x 50 cm) cubierta con tela de organza en un invernadero ventilado de 120 m<sup>2</sup> a 16-30 °C, 60% de humedad relativa y un fotoperiodo de ~12:12 h (L:O) hasta su uso en los bioensayos. Las ninfas se mantuvieron, sobre los brotes que se colectaron en campo, bajo condiciones de laboratorio en las jaulas entomológicas antes mencionadas. En las poblaciones de Dci-CParácuaro, Dci-El Junco y Dci-Antúnez, el manejo de *D. citri* se realiza a través de diversas aplicaciones de insecticidas tales como imidacloprid, tiametoxam, malation, spinetoram, bifentrina, abamectina y clorpirifos.

Se utilizó la población susceptible de *D. citri* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (Dci-CNRCB), Tecomán, Colima, como población de referencia. Esta población se ha mantenido por más de cinco años y sin exposición a insecticidas sobre plantas de mirto o limonaria, bajo condiciones de invernadero de 20-35 °C, 60% de humedad relativa y un fotoperiodo de ~12:12 h (L:O).

Cuadro 1. Ubicación de los sitios de colecta de las poblaciones de campo de ninfas y adultos de *D. citri* utilizadas en los bioensayos de susceptibilidad y determinación de parasitismo.

Sitio de colecta (designación de la población)	Población más cercana	<sup>b</sup> Colectas 2014		<sup>c</sup> Colectas 2015
		Adultos	Ninfas	Ninfas
Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (Dci-CNRCB )				
Crucero de Parácuaro (Dci-CParácuaro)	12 Km E Apatzingán	20 de mayo 04 de noviembre	24 de agosto	15 de abril 14 de mayo 20 de julio
El Junco (Dci- El Junco)	12 Km SE de Parácuaro	04 de junio 04 de noviembre	28 de agosto	15 de abril 20 de junio 20 de julio
Antúnez (Dci- Antúnez)	8 Km O Nueva Italia	04 de junio 04 de noviembre	29 de agosto	23 de marzo 14 de mayo 25 de julio
Nueva Italia-1 <sup>a</sup>	0.2 Km N Nueva Italia			10 de abril 20 de junio 20 de julio
Nueva Italia-2	0.5 Km E Nueva Italia			15 de abril 20 de junio 25 de julio

<sup>a</sup> Población colectada en jazmín o limonaria (*M. paniculata*)

<sup>b</sup> Colecta para determinar resistencia

<sup>c</sup> Colecta para determinar parasitismo

## 5.2 Insecticidas

Los insecticidas utilizados fueron Lorsban® (44.50% de clorpirifos, concentrado emulsionable, Dow AgroScience, Tetla, Tlaxcala, México), Talstar® 100 (12.15% de bifentrina, concentrado emulsionable, FMC Agroquímica de México S. de R. L. de C.V., Zapopan, Jalisco, México) y Malphos® 1000 (83.70% de malation, concentrado emulsionable, Agrícola Innovación, S. A de C.V., México D. F.).

## 5.3 Bioensayos

Los ensayos de resistencia de adultos y ninfas de *D. citri*, se realizaron un día después de la colecta de los insectos en campo y se colocaron en condiciones controladas de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura,  $75 \pm 5\%$  de humedad relativa y un fotoperiodo de 16:8 h (luz: oscuridad).

### 5.3.1 Monitoreo de resistencia en adultos

Se utilizaron brotes de limón mexicano de 5 cm de longitud, con dos o tres hojas. Cada brote se sumergió durante cinco segundos en una solución de 30 ml de seis o siete diferentes concentraciones de bifentrina (0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.5 y 10 mg de ingrediente activo [i.a.]/L), malation (15, 25, 50, 75, 100, 150 y 200 mg i.a./L) y clorpirifos (10, 25, 50, 75, 100 y 200 mg de i.a./L). Para aumentar la deposición de los insecticidas sobre las hojas de limón mexicano, se utilizó el adherente dispersante Tween al 0.01% (peso: volumen). Los brotes que se utilizaron para los testigos se sumergieron solamente en agua destilada más el adherente dispersante. Previo al bioensayo, los brotes de limón se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 0.01%, seguido de dos lavados con agua destilada.

Después del secado (~1 h después del tratamiento) sobre papel absorbente, cada brote de limón mexicano se colocó en un vaso de plástico (3.5 cm altura x 4.5 cm de diámetro) que contenía 15 ml de agua. Los brotes se sujetaron con un algodón a través de un orificio de la tapa del vaso. Posteriormente, cada brote se introdujo en un cilindro de plástico transparente (12.5 cm de altura x 6 cm de diámetro) abierto en sus dos extremos. El extremo superior se cubrió con tela de organza para facilitar la ventilación y evitar el escape de los insectos. Con

ayuda de un aspirador bucal, se colocaron 15 adultos sin sexar, de *D. citri*. El procedimiento de cada bioensayo se repitió cuatro veces y cada repetición consistió de un cilindro de plástico con un brote de limón mexicano con 15 adultos. La mortalidad de los adultos se registró cada 24 h. El insecto que no fue capaz de moverse al tocarlo con un pincel de cerdas finas se consideró muerto.

### **5.3.2 Monitoreo de resistencia en ninfas**

El ensayo de susceptibilidad de las ninfas de *D. citri* hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos se realizó de la misma forma como se describió previamente. Después del tratamiento, los brotes de limón mexicano se infestaron, con ayuda de un pincel de cerdas finas, con 15 ninfas de cuarto ínstar de *D. citri*. Los brotes tratados se colocaron como se mencionó en el ensayo de los adultos. El ensayo se repitió cuatro veces en días distintos. La mortalidad de las ninfas se registró cada 24 h. Las ninfas flácidas o deshidratadas que se separaron fácilmente de la superficie de las hojas se consideraron muertas.

### **5.4 Parasitismo de *T. radiata***

El parasitismo de *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* se determinó en los tres sitios (Antúnez, El Junco y Crucero de Parácuaro) en donde se realizó el monitoreo de la resistencia de los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos, pero en fechas diferentes. Además, se incluyeron los sitios Nueva Italia-1 y Nueva Italia-2 (Cuadro 1). Las colectas de las ninfas de *D. citri* en los sitios Antúnez, El Junco, Crucero de Parácuaro y Nueva Italia-2 se realizaron sobre árboles de limón mexicano; mientras que en el sitio Nueva Italia-1 se realizaron sobre plantas de limonaria localizadas en la periferia de los terrenos de la Escuela Secundaria Técnica No. 44 en la zona urbana de esta ciudad. Los árboles de limón mexicano (3 años de edad) y las plantas de *M. paniculata* tenían aproximadamente 1.5 y 2.8 m de altura, respectivamente.

En cada sitio se eligieron al azar 10 árboles de limón o 10 plantas de *M. paniculata*. Cada árbol o planta se dividió en tres cuadrantes: alto, medio y bajo. Del cuadrante medio se eligieron tres brotes (8-10 cm de largo) (uno del extremo izquierdo, otro de la parte central y el

último del extremo derecho) infestados con ninfas de los cinco instares de *D. citri*. El muestreo en *M. paniculata* se realizó de la misma forma, sólo que los brotes fueron de 5-8 cm. Los brotes de cada árbol de limón mexicano o de la planta de *M. paniculata* se colocaron en una bolsa de papel estraza y se transportaron en una hielera de poliestireno al LEA del IIAF de la UMSNH.

Debido a que las hembras de *T. radiata* ovipositan externamente entre la superficie de las hojas y la ninfa hospedera, cada ninfa de *D. citri* se colocó ventralmente para revisar la presencia de los huevos y larvas del parasitoide, en caso de estar parasitada. Las ninfas del hospedero parasitadas con el estado de pupa del parasitoide se reconocieron por su color café cobrizo con aspecto de momia. También se contabilizaron las ninfas de *D. citri* de las cuales se observó el orificio de emergencia del adulto del parasitoide, de acuerdo con Paiva y Parra (2012). El parasitismo se evaluó un día posterior a la colecta tomando en cuenta todas las características antes mencionadas.

## **5.5 Análisis de datos**

Los datos de mortalidad de adultos y ninfas de *D. citri* de los bioensayos de resistencia de las poblaciones de referencia y campo se sometieron a un análisis probit con el programa POLO-PC (LeOra Software 1987). Los valores de la concentración letal media ( $CL_{50}$ ) se calcularon en mg de i.a. /L. El traslape de los límites confidenciales (LC) al 95% se utilizó como criterio para determinar si existen diferencias significativas. Los análisis probit de las poblaciones de adultos Dci-El Junco y Dci-CParácuaro ensayados con los insecticidas malation y clorpirifos, respectivamente, así como la población de ninfas Dci-CParácuaro del insecticida clorpirifos, mostraron sobre-dispersión en los datos y se aplicó la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow, y se analizaron con el programa R Core Team (2014) con una transformación a log-10. Los análisis probit de los adultos ensayados con el insecticida clorpirifos para la población de referencia Dci-CNRCB así como el de la población de ninfas Dci-Antúnez ensayada con el insecticida malation, se realizaron con el programa SPSS V. 20.

Las proporciones de resistencia (PR) se calcularon de la siguiente forma:



PR = valor de la CL<sub>50</sub> de la población de campo/valor de la CL<sub>50</sub> de la población susceptible.

El porcentaje de parasitismo causado por *T. radiata* sobre ninfas de *D. citri* se calculó de la siguiente manera, de acuerdo a Sánchez *et al.* (2012):

$$\% \text{ parasitismo} = \frac{\text{NnPi} \times 100}{\text{Tnmi}} \times 100$$

NnPi = número de ninfas por instar parasitado, y

Tnmi = total de ninfas muestreadas por instar

Por otro lado, el parasitismo total acumulado se determinó a través de la suma del porcentaje de parasitismo obtenido en cada instar ninfal.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Monitoreo de resistencia en adultos

La susceptibilidad de las diferentes poblaciones de adultos de *D. citri* colectadas en 2014 en diferentes localidades del Valle de Apatzingán, Michoacán, dependió de la fecha de colecta e insecticida (Cuadro 2). Para bifentrina, los valores de las  $CL_{50}$  de las tres poblaciones de este insecto colectadas, cada una, en dos meses del año (mayo y noviembre o junio y noviembre) fueron  $<0.1$  mg de i.a./L, con excepción de la población Dci-CParácuaro colectada en el mes de noviembre donde se obtuvo una  $CL_{50}$  de 0.14 mg de i.a./L. Con base a los límites de confianza al 95% no hubo diferencias significativas entre los valores de la  $CL_{50}$  de las tres poblaciones colectadas en los diferentes meses del año, comparado con la población de referencia, con excepción de las poblaciones Dci-CParácuaro y Dci-El Junco colectadas en el mes de noviembre. Los valores de la PR para las tres poblaciones de adultos de *D. citri* fue  $\leq 7.0$ .

Los valores de las  $CL_{50}$  de malation de las tres poblaciones de adultos de *D. citri* estuvieron comprendidas entre 48 y 107 mg de i.a./L para las poblaciones Dci-Parácuaro y Dci-Antúnez, cuando se colectaron en los meses de mayo y junio, respectivamente. En la población Dci-El Junco la  $CL_{50}$  fue 0.03 mg de i.a./L, estos valores de las  $CL_{50}$  son muy similares a los determinados (entre 57 y 114 mg de i.a./L) para las tres poblaciones de adultos cuando se colectaron en el mes de noviembre. Con base al no traslape de los límites de confianza al 95%, los valores de las  $CL_{50}$  de las tres poblaciones de adultos de *D. citri* fueron significativamente más altos que el registrado (0.33 mg de i.a./L) en la población de referencia (Dci-CNRCB). Los valores de la PR para las tres poblaciones hacia malation estuvieron comprendidos entre 145 a 343. La PR de la población Dci-El Junco no se determinó debido a que el valor de la  $CL_{50}$  fue menor que el registrado en la población de referencia.

Cuadro 2. Regresión Probit a las 72 h de mortalidad de adultos de *D. citri* después de la alimentación con brotes de limón mexicano tratados por inmersión con tres insecticidas.

Población	Época de colecta	Pendiente ± EE	CL <sub>50</sub> (95% LC) <sup>1</sup>	χ <sup>2</sup>	gl	PR
<b>Bifentrina</b>						
Dci-CNRCB		0.67 ± 0.07	0.02 (0.01-0.03)	1.8	6	1
Dci-Antúnez	Junio	0.54 ± 0.06	0.05 (0.01-0.21)	9	5	2.5
	Noviembre	0.40 ± 0.04	0.09 (0.03-0.25)	7	7	4.5
Dci-CParácuaro	Mayo	0.47 ± 0.05	0.07 (0.01-0.41)	10	5	3.5
	Noviembre	0.41 ± 0.04	0.14 (0.5-0.34)	6	7	7
Dci- El Junco	Junio	0.45 ± 0.04	0.03 (0.01-0.07)	4	6	1.5
	Noviembre	0.46 ± 0.05	0.09 (0.4-0.20)	3	7	4.5
<b>Malation</b>						
Dci-CNRCB		0.67 ± 0.07	0.33 (0.16-0.71)	6	5	1
Dci-Antúnez	Junio	1.45 ± 0.32	107 (85-153)	5	3	324
	Noviembre	1.60 ± 0.21	66 (51-84)	3	5	190
Dci-CParácuaro	Mayo	1.80 ± 0.33	48 (34-65)	3	3	145
	Noviembre	1.8 ± 0.22	57 (44-71)	4	5	172
Dci- El Junco	Junio	0.45 ± 0.04	0.03 (0.01-0.07)	4	6	-
	Noviembre	1.04 ± 0.10	114 (93-120)	0.3	5	343
<b>Clorpirifos</b>						
Dci-CNRCB		0.11 ± 0.13	0.04 (0.005-0.11)	3.4	5	1
Dci-Antúnez	Junio	3.53 ± 0.84	97 (71-115)a	5	5	2425
	Noviembre	1.3 ± 0.19	60 (43-78)a	3	5	1500
Dci-CParácuaro	Mayo	0.01 ± 0.001	73(57-77)	1.1	5	1825
	Noviembre	1.7 ± 0.21	47 (35-59)	1	5	1175
Dci- El Junco	Junio	1.41 ± 0.27	88 (38-146)	8	4	2200
	Noviembre	1.5 ± 0.24	66 (46-87)	3	5	1650

<sup>1</sup>La toxicidad se expresa como la CL<sub>50</sub> (mg de i.a/L)

Para el insecticida clorpirifos, los valores de las CL<sub>50</sub> de las tres poblaciones fueron más altos (entre 73 y 97 mg de i.a./L) cuando se colectaron en los meses de mayo y junio comparado a cuando las poblaciones se colectaron en el mes de noviembre (entre 47 y 66 mg de i.a./L). Todas las poblaciones fueron significativamente distintas a la población de referencia Dci-CNRCB donde se obtuvo una CL<sub>50</sub> de 0.04 mg de i.a./L. Los valores de la PR

estuvieron comprendidos entre 1825 y 2425 durante los meses de mayo y junio, y entre 1175 y 1650 en el mes de noviembre.

## 6.2 Monitoreo de resistencia en ninfas

Los valores de las  $CL_{50}$  de los tres insecticidas ensayados sobre las ninfas de cuarto ínstar *D. citri*, colectadas en el mes de agosto de 2014, se muestran en el cuadro 3. Para bifentrina, los valores de las  $CL_{50}$  de las tres poblaciones fueron  $\leq 0.10$  mg de i.a./L. De las tres poblaciones colectadas en campo, solamente la población Dci-El Junco fue significativamente distinta ( $CL_{50} = 0.10$  mg de i.a./L) a la población de referencia (Dci-CNRCB) ( $CL_{50} = 0.02$  mg de i.a./L), con base al no traslape de los límites de confianza al 95%. Los valores de la PR para las tres poblaciones de ninfas de *D. citri* fue  $\leq 5.0$ .

Cuadro 3. Regresión Probit a las 24 h de mortalidad de ninfas de *D. citri* después de la alimentación con brotes de limón mexicano tratados por inmersión con tres insecticidas.

Población	b $\pm$ EE	$CL_{50}$ (95% LC) <sup>1</sup>	$\chi^2$	gl	PR
<b>Bifentrina</b>					
Dci-CNRCB	0.74 $\pm$ 0.07	0.02 (0.01-0.03)	5	6	1
Dci-Antúnez	0.57 $\pm$ 0.05	0.05 (0.03-0.09)	7	7	2.5
Dci-CParácuaro	0.64 $\pm$ 0.05	0.02 (0.01-0.03)	4	7	1
Dci- El Junco	0.50 $\pm$ 0.05	0.10 (0.05-0.21)	3	7	5
<b>Malation</b>					
Dci-CNRCB	0.54 $\pm$ 0.07	0.28 (0.11-0.67)	6	5	1
Dci-Antúnez	0.21 $\pm$ 0.03	121 (99-137)	2	4	432
Dci-CParácuaro	0.01 $\pm$ 0.001	87 (73-91)	0.5	5	310
Dci- El Junco	0.98 $\pm$ 0.14	107 (65-134)	6.9	5	382
<b>Clorpirifos</b>					
Dci-CNRCB	0.58 $\pm$ 0.03	0.08 (0.01-0.29)	14	5	1
Dci-Antúnez	2.15 $\pm$ 0.34	36 (23-47)	5	6	450
Dci-CParácuaro	1.22 $\pm$ 0.19	50 (26-103)	6	4	625
Dci- El Junco	2.7 $\pm$ 0.85	113 (91-151)	5	5	1412

<sup>1</sup>La toxicidad se expresa como la  $CL_{50}$  (mg de i.a/L)

Para malation, los valores de las  $CL_{50}$  fueron 87, 107 y 121 mg de i.a./L para las poblaciones Dci-CParácuaro, Dci-El Junco y Dci-Antúnez, respectivamente. Con base a los límites de confianza al 95% de la  $CL_{50}$ , la población Dci-CParácuaro fue significativamente diferente a la población Dci-Antúnez pero no a la población Dci-El Junco. Las tres poblaciones fueron significativamente diferentes a la población de referencia Dci-CNRCB que registró 0.28 mg de i.a./L. Los valores de la PR estuvieron comprendidos entre 310 y 432 veces para las tres poblaciones. Para clorpirifos, los valores de las  $CL_{50}$  de las tres poblaciones de ninfas fueron desde 36 hasta 113 mg de i.a./L. Con base a los límites de confianza al 95%, las  $CL_{50}$  de las poblaciones Dci-Antúnez y Dci-El Junco son significativamente diferentes, pero ambas no difieren de la población Dci-CParácuaro. Las tres poblaciones son significativamente diferentes a la población de referencia Dci-CNRCB que registró 0.08 mg de i.a./L. Las PR estuvieron comprendidas entre 450 y 1412 veces.

### **6.3 Parasitismo de *T. radiata***

Durante el desarrollo de este estudio (periodo de febrero a mayo de 2015) se colectaron 750 brotes (90 de limonaria + 660 de limón mexicano), con 34,317 ninfas de los cinco instars de *D. citri*, de las cuales el 7.1% (2,882) estuvieron parasitadas por *T. radiata*. El parasitismo causado por *T. radiata* dependió del sitio, fecha de colecta e instar ninfal de *D. citri* (Cuadro 5). En todos los sitios y fechas de colecta, *T. radiata* no parasitó a las ninfas de primero y segundo instar. El parasitismo en ninfas de tercer instar fue  $\leq 2.3\%$  y sólo se observó en los sitios Crucero de Parácuaro (14 de mayo), El Junco (15 de abril) y Antúnez (23 de marzo y 14 de mayo).

Las ninfas de cuarto y quinto instar resultaron parasitadas con mayor frecuencia. Sin embargo, los porcentajes de parasitismo en ambos instares fueron bajos ( $\leq 7\%$ ), con excepción de las ninfas de cuarto instar colectadas el 14 de mayo en los sitios Crucero de Parácuaro y Antúnez donde se registró 17.3 y 28.9%, respectivamente. En estos mismos sitios se registró el más alto parasitismo total acumulado con 26.2 y 35.8%, respectivamente. En el resto de los sitios y fechas de colecta, se obtuvo un parasitismo total acumulado  $\leq 9\%$ .

Cuadro 4. Porcentajes de parasitismo causado por *Tamarixia radiata* sobre ninfas de diferentes instars de *D. citri* en diferentes sitios del Valle de Apatzingán, Michoacán.

Sitio muestreado*	Mes de Colecta	n	Ínstares ninfales					Total acumulado
			N1	N2	N3	N4	N5	
Crucero de Parácuaro	Abril	4473	0	0	0	1.5	0.3	1.8
	Mayo	4000	0	0	2.3	17.3	6.6	26.2
	Julio	921	0	0	0	5.1	2.6	7.7
El Junco	Abril	2659	0	0	0.1	3.1	0.6	3.8
	Junio	1137	0	0	0	1.7	0.7	2.4
	Julio	866	0	0	0	2.8	1.6	4.4
Antúnez	marzo	3364	0	0	0.5	2.9	2.3	5.7
	mayo	2442	0	0	1.2	28.9	5.7	35.8
	Julio	1415	0	0	0	6.6	2.9	9.1
Nueva-Italia 1	Abril	4665	0	0	0	1.2	4.8	6
	Junio	2359	0	0	0	1.4	1.5	2.9
	Julio	741	0	0	0	0	0	0
Nueva-Italia 2	Abril	2944	0	0	0	1.9	0.8	2.7
	Junio	1105	0	0	0	1	0.5	1.5
	Julio	1226	0	0	0	1.5	0	1.5

n: total de ninfas muestreadas, N: instar ninfal.

\*Todos los sitios se muestrearon sobre arboles de limón, con excepción de Nueva-Italia 2 en donde las muestras se tomaron sobre plantas de *Murraya paniculata*.

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1 Monitoreo de la resistencia

Los insectos plaga pueden desarrollar resistencia hacia los insecticidas químicos utilizados para su control (Georghiou y Mellon 1983). Por ello, con el objetivo de prevenir el desarrollo de este fenómeno, es necesario determinar periódicamente los cambios en la susceptibilidad de las poblaciones de estos insectos hacia las diferentes clases de compuestos utilizados. El presente estudio provee las líneas base de susceptibilidad hacia los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos para diferentes poblaciones de ninfas y adultos de *D. citri* colectadas en el Valle de Apatzingán, Michoacán. Todas las poblaciones de ninfas y adultos de *D. citri* registraron niveles bajos de resistencia ( $\leq 7$  veces) hacia bifentrina en todas las épocas de colecta. Estos resultados coinciden con la literatura disponible a cerca del desarrollo de la resistencia de este insecto hacia los compuestos piretroides. Al respecto, Tiwari *et al.* (2011a) reportaron niveles de resistencia  $\leq 3$  veces en cinco poblaciones de ninfas y adultos de *D. citri* colectadas en diferentes sitios del estado de Florida, Estados Unidos de América (EUA) (Groveland, Lake Alfred, Fort Pierce, Vero Beach y La Belle) hacia bifentrina y cipermetrina. De igual forma, niveles bajos de resistencia ( $\leq 8$  veces) se registraron hacia los compuestos cipermetrina y lambda-cialotrina en diversas poblaciones de adultos de *D. citri* colectadas en las regiones cítricas de los estados de Nayarit (Tepic), Michoacán (Apatzingán), Jalisco (El Limón, Casimiro Castillo, San Martín Hidalgo), Colima (CNRCB, Cofradia de Morelos, Cerro de Ortega y Tecololapa) (Vázquez *et al.* 2013) y Veracruz (Martínez de la Torre) (García 2013).

Los bajos niveles de resistencia registrados en el presente estudio hacia bifentrina pueden ser debido a que, desde que *D. citri* se registró por primera vez en el Valle de Apatzingán, Michoacán (diciembre de 2006), los agricultores realizan una aplicación por año de este insecticida para el control de este insecto, además, en 2011 se inició la campaña contra el HLB que consiste en disminuir las poblaciones de *D. citri* mediante el manejo en áreas amplias y contribuir al confinamiento y reducción de avances de esta enfermedad a través del programa de Áreas Regionales de Control (ARCOS) (Miranda y López 2010). Dentro de las acciones que se realizan en esta campaña es el uso, por una vez al año, de los compuestos z-cipermetrina, Engeo (tiametoxam + lambda-cialotrina) y Muralla-Max (imidacloprid +

betacyflutrina) (M. A. Miranda-Salcedo, conversación personal<sup>1</sup>). Por lo tanto, las diferentes poblaciones de *D. citri* no han sido sometidas a presión de selección a bifentrina durante los pasados tres años, lo cual es consistente con las bajas proporciones de resistencia. De igual forma, es razonable suponer que las pequeñas diferencias en susceptibilidad detectadas entre las poblaciones de campo (Dci- El Junco, Dci-CParácuaro y Dci-Antúnez) y la población de referencia (Dci-CNRCB) son probablemente debido a los bajos niveles de variación natural. Sin embargo, en un ensayo residual, utilizando el método por inmersión, una población de adultos de *D. citri* colectada en *M. paniculata* en Piracicaba, Sao Paulo, Brasil, se registró una CL<sub>50</sub> de 7.92 mg de i.a./L de deltametrina (Poltronieri 2014). Este valor de CL<sub>50</sub> es, hasta ahora, el más alto registrado para un insecticida piretroide hacia una población de este insecto. Al comparar este resultado con los valores de las CL<sub>50</sub> de las tres poblaciones de campo y la de referencia ensayadas en el presente estudio se tiene una diferencia de alrededor de 8 mg de i.a./L, lo cual puede ser debido al diferente insecticida utilizado, origen de las poblaciones y hospedero de *D. citri*.

El desarrollo de resistencia de *D. citri* hacia los insecticidas del grupo de los organofosforados ya fue documentado previamente (Tiwari *et al.* 2011a). En este estudio, las ninfas y adultos de esta plaga fueron altamente resistentes hacia malation con niveles de resistencia de hasta 432 y 343, respectivamente. En contraste, Vázquez *et al.* (2013) y Tiwari *et al.* (2011a) registraron valores de resistencia muy bajos ( $\leq 6.20$ ) hacia este compuesto en diversas poblaciones de adultos y/o ninfas colectadas en diversas regiones citrícolas de México y EUA. Respecto al insecticida clorpirifos, las poblaciones de ninfas y adultos de *D. citri* ensayadas en este estudio registraron valores de resistencia  $\leq 1412$  y  $\leq 2425$ , respectivamente. En contraste, Vázquez *et al.* (2013) reportaron valores de resistencia variables en nueve poblaciones de adultos hacia este compuesto (rango de 1.80 a 26.52). El valor más alto de resistencia encontrado por estos autores corresponde a la población que ellos denominaron como Apatzingán, la cual fue colectada en 2012 y 2013 en el mismo lugar que la población Dci-Antúnez del presente estudio. Esto significa que en el periodo de dos años, la resistencia en esta población hacia clorpirifos incrementó 2398 veces. Sin embargo, es importante señalar que Vázquez *et al.* (2013) realizaron sus ensayos a través del método tópico (aplicación del insecticida en el dorso

<sup>1</sup>Dr. Mario Alberto Miranda Salcedo, Investigador titular del INIFAP-Campo Experimental, Valle de Apatzingán



del tórax del insecto), mientras que en el presente estudio se realizaron por el método residual (inmersión de hojas y posteriormente se ofrecieron para su alimentación). Por otro lado, Tiwari *et al.* (2011a) reportaron bajos niveles de resistencia ( $\leq 17.92$ ) en cinco poblaciones de adultos y ninfas de *D. citri* colectadas en Florida, EUA; lo que atribuyeron a la rotación de insecticidas de diferente grupo toxicológico. Los valores altos de resistencia obtenidos en este estudio hacia malation y clorpirifos pueden atribuirse a tres factores. Primero, la aplicación, dentro de las medidas de control dirigidas hacia *D. citri* e implementadas por los agricultores y el gobierno federal a través de la campaña nacional del HLB de los cítricos, de hasta seis veces por año, de ambos compuestos más el insecticida dimetoato (Cortéz *et al.* 2010), lo que incrementa la presión de selección. Segundo, debido a la resistencia cruzada, puesto que cuando un insecto desarrolla resistencia hacia diversos insecticidas es porque comparten por lo menos un mecanismo de resistencia (Lagunes y Villanueva 1994, Tiwari *et al.* 2012), como ha sido documentado en el presente estudio hacia malation y clorpirifos. Al respecto, Couso *et al.* (2011) reportaron resistencia cruzada entre los compuestos malation y clorpirifos en la mosca del mediterráneo, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), mientras que Ahmad *et al.* (2009) reportaron este fenómeno en *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) entre los insecticidas clorpirifos y profenofos. Tercero, los insecticidas organofosforados presentan una molécula con diferentes puntos donde pueden acoplarse cuatro o más enzimas (Glutatón S transferasa, Citocromo P450 oxidasas, Acetilcolinaesterasa y Carboxilasas) (Lagunes y Villanueva 1994), que pueden contribuir a la detoxificación de estos compuestos. Al respecto, Tiwari *et al.* (2011a,b) reportaron que la resistencia en *D. citri* hacia diversos insecticidas se correlacionó positivamente con los niveles de las enzimas esterasas generales, glutatión S-transferasas y citocromo P450 monooxigenasas, lo cual también puede estar ocurriendo con las poblaciones de ninfas y adultos de *D. citri* que presentaron altos niveles de resistencia hacia malation y clorpirifos en el presente estudio. Los niveles de estas enzimas fueron más altos en diversas poblaciones de ninfas y adultos de este insecto colectadas en campo comparado con los registrados en una población susceptible (Tiwari *et al.* 2011a).

Por otro lado, Tiwari *et al.* (2012) realizó un ensayo con una población de adultos y ninfas susceptibles de laboratorio (Centro de Investigación Citrícola de Lake Alfred, Florida) y cinco poblaciones de una zona citrícola de Florida (Lake County, Saint Lucie County,

Hendry County, Polk County, Indian River County). Los autores probaron la actividad y sensibilidad a la inhibición de acetilcolinesterasa (ACE) a las formas activas de los insecticidas clorpirifos-oxon, malation, ometoato, para-oxon, aldicarb-sulfoxide, carbaryl), así mismo evaluaron cómo interviene la actividad de la enzima glutatión S-transferasa en la resistencia a los compuestos organofosforados. En este caso, la actividad de ACE fue, en general, más alta ( $0.01$  a  $2 \mu\text{M min}^{-1}$  mg de proteína) en las poblaciones de campo que en la población susceptible ( $0.51$  a  $2.0 \mu\text{M min}^{-1}$  mg de proteína). La actividad de la insensibilidad no mostró significancia estadística en las poblaciones de campo, mientras que en las poblaciones susceptibles la actividad de las enzimas glutatión S-transferasa y esterasas generales fue más sensible en contraste con las poblaciones de campo. Por lo tanto, la alta actividad de la ACE aumentó la resistencia de las poblaciones de campo, como pudo suceder en el presente estudio, Sin embargo, hacen falta más investigaciones para corroborar esta hipótesis.

## **7.2. Parasitismo de *T. radiata***

El ectoparásitoide *T. radiata* es el enemigo natural de *D. citri* más estudiado en todas las regiones cítricas del mundo y ha sido utilizado como un agente de control biológico en países como China, Malaysia, Indonesia, Estados Unidos, Puerto Rico, Argentina, Brasil y México, entre otros (Étienne *et al.* 2001, Hoy *et al.* 2006). *Tamarixia radiata* se identificó por primera vez en México en 2008 con adultos provenientes de ninfas de *D. citri* sobre limón mexicano, naranja *Citrus sinensis* Obsbeck y mandarina *Citrus reticulata* en los estados de Colima, Michoacán, Nuevo León, Sinaloa, Sonora y Tamaulipas (González *et al.* 2009). Las cualidades de este parasitoide se basan en su evidente capacidad de búsqueda y colonización (Chen y Stansly 2014). Además, provoca la muerte de las ninfas de su hospedero al momento de la ovoposición y se alimentan de aquellas no parasitadas para obtener proteínas para el desarrollo de los huevos, esto se lleva a cabo por medio de la extracción de la hemolinfa, comportamiento que también es conocido como *host-feeding* (Jervis y Kidd 1986, Godfray 1994, Hoy *et al.* 2006, Ebratt *et al.* 2011, Morales *et al.* 2013).

En el presente estudio se llevó a cabo una exploración de los niveles de parasitismo natural por *T. radiata* sobre *D. citri* en varias zonas productoras de limón y en un área con

presencia de limonaria en el Valle de Apatzingán en el estado de Michoacán. En el periodo de febrero a mayo de 2015 se colectó un alto número de ninfas del hospedero (~ 30, 000) y los niveles de parasitismo se observaron entre 0 y 35.8%. Algunos de estos resultados son similares a otros estudios, en donde se evaluaron los niveles de parasitismo natural de *T. radiata* en las zonas citrícolas más importantes de México (Colima, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Baja California Sur y San Luis Potosí) y se obtuvieron niveles entre 3 y 30% (Moreno *et al.* 2014). Particularmente, en el municipio de Apatzingán, Michoacán, ubicado a 12 Km al este de uno de los sitios de muestreo (Crucero de Parácuaro), estos autores obtuvieron 23.7% de parasitismo, muy similar a lo encontrado en el presente estudio (26.2%) en el sitio Crucero de Parácuaro y, que de hecho, en conjunto con la localidad de Antúnez (35.8%) fueron los más altos registrados. Quizás estos niveles de parasitismo se deban, en parte, a que en ambos sitios de colecta existió menor uso de pesticidas previo a la determinación del parasitismo. Es ampliamente conocido el efecto letal y subletal que estos compuestos pueden provocar sobre el desempeño de los enemigos naturales, especialmente en los parasitoides (Talebi *et al.* 2008, Hall y Nguyen 2010, Viñuela 2011).

En una zona productora de naranja en Sao Pablo, Brasil, *T. radiata* causó entre 5.4 y 35.6% de parasitismo natural sobre ninfas de *D. citri* durante un periodo de cuatro años de muestreo (2005-2008) (Paiva y Parra 2012), similar a lo registrado en el presente estudio. Además, estos autores observaron una influencia significativa de la época del año y de la variedad de la planta hospedera sobre en el nivel de parasitismo debido a que en los meses de enero y marzo, y con la variedad Hamlin, se obtuvieron los mayores niveles de parasitismo (25.7 y 35.6%, respectivamente). Los mismos autores señalaron que los bajos niveles de parasitismo que ellos obtuvieron de *T. radiata* sobre *D. citri* pueden relacionarse con el bajo número de hospederos presentes en campo. Sin embargo, en el presente estudio los menores o nulos niveles de parasitismo se observaron en un alto rango de hospederos (de 741 a 4665 ninfas), lo cual indica que el incremento del parasitoide depende de otros factores, quizás más relacionados con las condiciones climáticas o las condiciones del entorno (Mann *et al.* 2010).

En el presente estudio se observó en que el mes de mayo, en donde se presentan las mayores temperaturas en las zonas bajo estudio (25.4 - 46.5°C), se obtuvieron los mayores niveles de parasitismo, lo cual podría también indicar que el parasitoide tiene una gran

adaptación a los periodos más cálidos. Sin embargo, estudios de laboratorio indican que las altas temperaturas (30-35°C) pueden afectar la sobrevivencia y desarrollo del parasitoide (Vega 2013). Gómez *et al.* (2012) observaron que los niveles más altos de parasitismo de *T. radiata* sobre *D. citri* se registraron en un rango de 25 a 30 °C (85% y 72% respectivamente) comparado en un rango de 15 a 35°C (23.1 a 40.2%, respectivamente). Además, con el primero rango de temperatura, observaron los mayores niveles de emergencia del parasitoide (86.7% y 88.3%), comparado con el ~50% observado con el segundo rango. Si bien, el desarrollo y éxito de *T. radiata* puede depender de factores como la temperatura (Chen y Stansly 2014), se requieren más estudios que evalúen su nivel de tolerancia a las condiciones climáticas de campo y el papel que pueden jugar las zonas de refugio durante las condiciones desfavorables (Nicholls 2006, Gómez *et al.* 2012, Barrié *et al.* 2015).

Por otro lado, es ampliamente conocido que la influencia de la planta y los propios volátiles del hospedero incrementan su localización por parte de los enemigos naturales (Ayasse *et al.* 2001). Las avispas perciben feromonas y otros volátiles a través de los sénsulos, órganos sensoriales olfativos que se encuentran en las antenas (Isidoro *et al.* 1996, Ayasse *et al.* 2001) y que han sido observados en *T. radiata* (Onagbola *et al.* 2009). Mann *et al.* (2010) reportaron que las hembras de *T. radiata* tuvieron un mayor porcentaje de respuesta (~ 42%) a los volátiles derivados de las ninfas de *D. citri* + la planta hospedera comparado con las ninfas solas (~ 28%). Además, en otro experimento, las hembras tuvieron la misma respuesta (~ 60%) hacia ninfas + plantas de naranja que hacia ninfas + plantas de limonaria. En el presente estudio, también se observaron valores similares de parasitismo, tanto en limón mexicano como en limonaria, en los mismos periodos de tiempo y zonas de estudio (Nueva Italia 1 y 2). En contraste, en un estudio realizado en dos municipios del estado de Sinaloa (Salvador Alvarado y Culiacán), el mayor parasitismo natural de *T. radiata* sobre *D. citri* se observó en plantas de naranja (59.6%), seguida de limón mexicano (46.6%), limonaria (36.1%) y mandarina (1.5%) (Mondaca *et al.* 2011), aunque posiblemente estas diferencias también estén relacionadas con las condiciones de cada zona y el número de hospederos colectados.

Algunos de los niveles de parasitismo del presente y otros estudios en México, también coinciden con el parasitismo natural (23 y 68%) causado por *T. radiata* sobre *D. citri* en tres regiones (sureste, costa este y región central) productoras de cítricos del estado de Florida,

EUA (Qureshi *et al.* 2009). En el mismo estado, Chong *et al.* (2010) determinaron un porcentaje de 18.5%, pero en este caso el muestreo se realizó en zonas urbanas con presencia de plantas de limonaria. *Tamarixia radiata* es un parasitoide que también ha sido utilizado en esquemas de control biológico por aumento (CBA). Por ejemplo, Moreno *et al.* (2014) observaron que después de la liberación del parasitoide en zonas citrícolas de seis estados de México (Colima, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Baja California Sur y San Luis Potosí) el rango de parasitismo fue muy amplio (20 y 80%). Sánchez (2012) observó que tras la liberación del parasitoide en una zona con presencia de limonaria, los niveles de parasitismo fueron hasta de 50% en zonas aledañas a la localidad de Tecomán, Colima. Sin embargo, en ambos estudios no se mencionan los niveles de parasitismo natural previos a la liberación, por lo tanto no se podría estimar su verdadera contribución como agente de control biológico.

En la naturaleza, la actividad de los enemigos naturales endémicos y exóticos está estrechamente relacionada con distintos factores, tales como las condiciones climáticas, la disponibilidad de alimento, la diversificación del propio agro ecosistema y el uso de pesticidas por lo tanto, es difícil interpretar lo que en realidad sucede en el campo y las diferencias que pueden existir entre las distintas investigaciones (Nicholls 2006, Miranda *et al.* 2011, Chen y Stansly 2014). Además, en el caso de un parasitoide exótico que es utilizado en estrategias de CBA, como es el caso de *T. radiata*, su éxito también puede depender de factores relacionados con la calidad de su cría, las condiciones de la liberación y las condiciones que presenten en las zonas de liberación (Montoya y Toledo 2010).

Por otro lado, en el presente estudio se observó una mayor preferencia de *T. radiata* por los hospederos de mayor tamaño (N4 y N5), y entre ellos, una tendencia de preferencia por N4. Estos resultados coinciden con los estudios de Yu-ying y Zhi-peng (1991) quienes observaron que *T. radiata* parasitó preferentemente a las ninfas N4 (77%), comparado con N3 (23%) y N5 (3%) de *D. citri*. Sin embargo, Chen y Stansly (2014) reportaron que *T. radiata* tuvo preferencia de ovoposición sobre ninfas N5 de *D. citri*, y sus rangos de supervivencia del parasitoide fueron mayores (85%) comparado con el cuarto (71%) y tercer (33%) instar. Además, los adultos de *T. radiata* emergidos de ninfas N5 fueron los de mayor tamaño. En otras especies de parasitoides, también se ha observado una preferencia de parasitismo sobre ninfas de mayor tamaño, como es el caso de *Tamarixia triozae* (Burks) (Sulcs) sobre ninfas

N4 *B. cockerelli* (Yuqing y Zhipeng 1991, Morales *et al.* 2013) y *Encarsia sophia* (Girault y Dodd) y *Eretmocerus melanoscutus* (Zolnerowich y Rose) (Hymenoptera: Aphelinidae) sobre ninfas del mismo instar de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Lian y Tong 2007). Las diferencias en la preferencia de parasitismo entre especies de parasitoides pueden ser debido a la calidad y condición del huésped ya que ambos factores influyen en los procesos dinámicos de crecimiento, desarrollo y sobrevivencia y proporción de sexos de la progenie (Trivers y Willard 1973, Bull 1981, Charnov *et al.* 1981, King *et al.* 1993, Godfray 1994, Escudero 2011, Morales *et al.* 2013).

## 8. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos en este estudio tienen importantes implicaciones para el manejo de resistencia para los insecticidas bifentrina, malation y clorpirifos. Se recomienda la implementación de un programa de manejo de la resistencia, particularmente en las áreas donde *D. citri* ha desarrollado resistencia hacia los dos insecticidas organofosforados. Este programa podría incluir prácticas de saneamiento del cultivo, control cultural y rotación de clases de insecticidas. Desde enero de 2015 la campaña contra el HLB ha implementado el uso de compuestos más ambientalmente seguros de origen orgánico tales como impide (sales potásicas de ácido grasos), ultralux n y ultralux s (azadiractina) y spinoteram (spinosad) con el fin de hacer un manejo más eficiente de *D. citri*. Con la suspensión del uso de los insecticidas malation y clorpirifos, la susceptibilidad de las poblaciones de *D. citri* podría incrementar, así que dentro de unos pocos años los productores de cítricos en el Valle de Apatzingán Michoacán, podrían usar estos compuestos nuevamente.
- Los estudios relacionados con la exploración de los enemigos naturales en campo son claves para conocer el papel que están jugando en los sistemas agrícolas. Los niveles de parasitismo observados en el presente estudio confirman el éxito del establecimiento de *T. radiata* en México, incluso en las zonas con aplicaciones constantes de insecticidas químicos. Con el uso de insecticidas de menor impacto, las poblaciones de este parasitoide y otros enemigos naturales tales como *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysopa* sp. (Neuropeta: Chrysopidae), *Ociptamus* sp. (Diptera: Syrphidae), reportados previamente por Pardo (2013), podrían mantener bajas las poblaciones de *D. citri*. La campaña contra el HLB también incluye el uso de *T. radiata* producido en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico en Tecomán, Colima. Al respecto, se han realizado liberaciones de este parasitoide en distintas zonas cítricas del estado tales como Apatzingán y Buena Vista Tomatlan, pero no en los sitios donde se realizaron las colectas del presente estudio. Sin embargo, para un mejor entendimiento sobre su biología en condiciones de campo, se requieren futuras investigaciones que incluyan la influencia de las condiciones climáticas, sitios de refugio y efecto o tolerancia hacia los insecticidas, entre otros.

## 9. LITERATURA CITADA

- Aguilar, P. G. 1980. **Apuntes sobre el control biológico y el control integrado de las plagas agrícolas en el Perú.** *Revista Peruana de Entomología.* 23: 83-101.
- Ahmad, M., M. A. Saleem, A. H. Sayyed. 2009. **Efficacy of insecticide mixtures against pyrethroid-and organophosphate-resistant populations of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae).** *Pest Management Science.* 65: 266-274.
- Alemán, J., H. Baños, J. Ravelo. 2007. ***Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: una combinación destructiva para la producción citrícola.** *Revista de Protección Vegetal.* 22: 154-165.
- Arnó, J., J. Roig, R. Gabarra. 2007. **Activity of some biorational and conventional insecticides against *Bemisia tabaci* and their compatibility with whitefly parasitoids.** *Journal of Insect Science.* 4: 4-5.
- ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry) 1997. **Reseña toxicológica del clorpirifos.** Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU. Servicio de Salud Pública. Disponible en [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts84.pdf](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts84.pdf). (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry) 2001. **Reseña Toxicológica del Malation.** Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU. Servicio de Salud pública. Disponible en [http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/127\)MALATIÓN.pdf](http://www.cvs.saude.sp.gov.br/up/127)MALATIÓN.pdf). (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Aubert, B., S. Quilici. 1984. **Biological control of the African and Asian citrus psyllids (Homoptera: Psylloidea), through eulophid and parasites (Hymenoptera: Chalcidoidea) in Reunion Island.** En: *Proceeding of 9<sup>th</sup> Conference of the International Organization of Citrus Virologists.* University of California, Riverside, California. 100-108. pp.
- Ayasse, M., R. Paxton, J. Tengo. 2001. **Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera.** *Annual Review of Entomology.* 46: 31-78.
- Baños, D. H. 2014. ***Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae): agente de**



- control biológico para la regulación de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae).** *Revista de Protección Vegetal*. 29: 152-152.
- Baños, D. H., I. Miranda, M. De los Angeles. 2013. **Biología y tabla de vida de *Tamarixia radiata* Waterston, bajo condiciones controladas.** *Revista de Protección Vegetal*. 28: 120-126.
- Barrié, C. T. L., E. L. Kuk, L. C. Jurado, M. Sánchez. 2015. **Influencia del microclima en el parasitismo de *Diaphorina citri* por *Tamarixia radiata* en Yucatán.** Disponible en <http://www.ommac.org/Congreso2013/Extenso/E201308020.pdf>. (Accesado el 06 octubre de 2015).
- Bisset, J. A. 2002. **Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia.** *Revista Cubana de Medicina Tropical*. 54: 202-219.
- Bloomquist, J. 2015. **Insecticidas: Química y características.** Disponible en <http://ipmworld.umn.edu/cancelado/Spchapters/BloomquistSp.htm>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Bové, J. M. 2006. **Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century, old disease of citrus.** *Journal of Plant Pathology*. 88: 7-37.
- Bull, J. J. 1981. **Sex ratio evolution when fitness varies.** *Heredity*. 46: 9-26.
- Cermeli, M., P. Morales, F. Godoy. 2000. **Presencia del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela.** *Boletín de Entomología Venezolana*. 15: 235-243.
- Cermeli, M., P. Morales, J. Perozo, F. Godoy. 2009. **Distribución del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) y presencia de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en Venezuela.** *Entomotropica*. 22: 181-184.
- Charnov, E. L., R. L. Los-den, W. T. Jones, J. van den Assem. 1981. **Sex ratio evolution in a variable environment.** *Nature*. 289: 27-33.
- Chen, X., P. A. Stansly. 2014. **Biology of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of the citrus greening disease vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea): A mini review.** *Florida Entomologist*. 97: 1404-1413.
- Chong, J. H., A. L. Roda, C. M. Mannion. 2010. **Density and natural enemies of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae), in the residential**

- landscape of southern Florida.** *Journal of Agricultural and Urban Entomology*. 27: 33-49.
- Coronado, J. M., E. Ruíz, S. Nicolaevna, G. Gaona. 2003. **Parasitoide del psílido asiático de los cítricos *Tamarixia* sp. (Hymenoptera: Eulophidae).** Tamaulipas, México. En: *Memoria XXVI Congreso Nacional de Control Biológico*. Guadalajara, Jalisco, México. 71-73.
- Cortéz, M. E., A. I. López, L. M. Hernández, F. C. Fú, G. J. Loera. 2010. **Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos dulces, en México: selección de insecticidas y épocas de aplicación.** *Folleto Técnico*. INIFAP. 35.
- Cortéz, M. E., J. I. López, 2012. **Rotación de insecticidas para el manejo del psílido asiático de los cítricos mediante áreas regionales de control (ARCO's).** Disponible en [www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp](http://www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp). (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Couso, F., R. Arouri, B. Beroiz, N. Perera, A. Cervera, V. Navarro, F. Ortego. 2011. **Cross-resistance to insecticides in a malathion-resistant strain of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).** *Journal of Economic Entomology*. 104: 1349-1356.
- da Graca, J. V. 1991. **Citrus greening disease.** *Annual Review of Phytopathology*. 29: 109-136.
- Domínguez, M. A. 2003. **Evaluación del piretroide bifentrina sobre cambios conductuales de *Anopheles Albimanus* Wiedeman (Diptera: Culicidae), mediante el rociado intradomiciliario en sur el sur del estado de Quintana Roo, México.** Tesis de Maestría. Universidad Autonoma de Nuevo León, Nuevo León, México. 62 p.
- Ebratt, R., E. E. Rubio, L. T. Costa, V. A. Zambrano, E. M. Castro, Á. P. Santamaría, M. Y. Galindo. 2011. **Record of *Tamarixia radiata* Waterston, 1922, (Hymenoptera: Eulophidae) in Colombia.** *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*. 64: 6141-6146.
- Environmental Protection Agency of United States. 2006. **Reregistration eligibility decision for malathion.** Disponible en <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).

- EPPO. 2005. *Diaphorina citri*. Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2338.2005.00839.x/epdf>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Escudero, G. G. G. 2011. **Efectos de la calidad del huésped y edad del parasitoide en la proporción sexual de *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae)**. Tesis de Maestría. Colegio de posgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México. 23 p.
- Étienne, J., S. Quilici, D. Marival, A. Franck. 2001. **Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae)**. *Fruits*. 56: 307-315.
- García, D. C. S. 2009. ***Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), vector de la bacteria que causa el Huanglongbing (HLB-Greening)**. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Buenos Aires, Argentina. 18 p.
- García, P. F. 2013a. **Caracterización morfométrica y genética de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) de rutáceas en Cazones, Veracruz, México**. Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados, Montecillos, Texcoco, Estado de México. 58 p.
- García, M. V. 2013b. **Susceptibilidad de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) a insecticidas en Veracruz, México**. Tesis de Maestría, Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco, Estado de México. 41p.
- Garnier, M. N. 2000. **Enfermedades de los cítricos. Monografía de la Sociedad Española de Fitopatología**. *Ediciones Mundi Prensa*, Madrid, España. 2: 52-53.
- Geiger, C. A., A. P. Gutierrez. 2000. **Ecology of *Heteropsylla cubana* (Homoptera: Psyllidae): psyllid damage, tree phenology, thermal relations, and parasitism in the field**. *Environmental Entomology*. 29: 76-86.
- Georghiou, G. P., R. B. Mellon. 1983. **Pesticide resistance in time and space**. En: *Pest Resistance to Pest*. Georghiou, G. P., R. B. Mellon. (eds.) *Plenum Press*, New York, USA. 46 p.
- Godfray, H. C. J. 1994. **Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology**. *Princeton University Press*. New Jersey, USA. 437 p.
- Gómez, M. L., D. E. Nava, J. R. P. Parra. 2012. **Life table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures**. *Journal of Economic Entomology*. 105: 338-343.

- González, A., H. C. Arredondo, M. Robles, J. L. Martínez, J. Pérez, J. I. López. 2009. **Determinación de especies de parasitoides del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera; Psyllidae) en México.** *Entomología Mexicana*. 8: 373-377.
- González, C., M. Borges, D. Hernández, J. Rodríguez. 2003. **Inventory of natural enemies of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Cuba.** *Proceeding of International Society of Citriculture*. Orlando, Florida, USA. 859 p.
- Halbert, S. E., K. L. Manjunath. 2004. **Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease in citrus: A literature review and assessment of risk in Florida.** *Florida Entomologist*. 87: 330-353.
- Hall, D. G., R. Nguyen. 2010. **Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid.** *Biological Control*. 55: 601-611.
- Holguín, P. R., L. G. Hernández, R. Zulueta. 2012. **El Huanglongbing: la tristeza de los cítricos.** *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana*. 25: 7-16.
- Hoy, M., R. Nguyen, A. Jeyparakash. 2006. **Classical biological control of Asian citrus psyllid in Florida.** *Integrated Pest Management Florida*. Disponible en <http://ipm.ifas.ufl.edu/agriculture/citrus/psyllid.shtml> (Accesado el 06 de octubre de 2015).
- IRAC, (Insecticide Resistance Action Commite). 2011. **Clasificación del modo de acción de insecticidas y acaricidas.** Disponible en [http://www.irac-online.org/content/uploads/modo\\_de\\_accion\\_Oct11.pdf](http://www.irac-online.org/content/uploads/modo_de_accion_Oct11.pdf). (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Isidoro, N., F. Bin, S. Colazza, S. B. Vinson. 1996. **Morphology of antennal gustatory sensilla and glands in some parasitoid hymenoptera with hypothesis on their role in sex and host recognition.** *Journal of Hymenoptera Research*. 5: 206–239.
- Jervis, M. A., N. A. Kidd. 1986. **Host-feeding strategies in Hymenoptera parasitoids.** *Biological Reviews*. 61: 395-434.
- King, B. H., D. L. Wrensch, M. A. Ebbert. 1993. **Sex ratio manipulation by parasitoid wasps.** En: *Evolution and Diversity of Sex Ratio in Insects and Mites*. Wrensch, D. L., M. A. Ebbert. (eds.) *Chapman and Hall*, Tallahassee, Florida, USA. 23 p.

- Lagunes, A., J. A. Villanueva. 1994. **Toxicología y manejo de insecticidas**. *Apuntes*. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, Estado de México, México. 264 p.
- Lah, C. 2011. **Toxipedia, connecting science and people**. Disponible en <http://toxipedia.org/display/toxipedia/Bifenthrin>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Lian, S. Z., X. L. Tong 2007. **Host-feeding of three parasitoid species on *Bemisia tabaci* biotype B and implications for white-fly biological control**. *Entomología Experimentalis et Applicata*. 127: 55-63.
- López, J. I., J. Jasso, M. A. Reyes, J. Loera, E. Cortez, M. Miranda. 2010. **Perspectives for biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in México**. En: *Proceedings of the International Research Conference in Huanglongbing*, Orlando, Florida, USA. 289 p.
- Mann, R. S., J. A. Qureshi, P. A. Stansly, L. L. Stelinski. 2010. **Behavioral response of *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) to volatiles emanating from *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) and citrus**. *Journal of Insect Behavior*. 23: 447-458.
- Mann, R., L. L. Stelinski. 2013. **An Asian citrus psyllid parasitoid *Tamarixia radiata* (Waterston) (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae)**. Disponible en <https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN85800.pdf>. (Accesado 08 de octubre de 2015).
- Martínez, C. J. L. 2008. ***Diaphorina citri* Kuwayama psílido asiático de los cítricos**. Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx/includes/asp/download.asp?IdDocumento=21365&IdUrl=39203>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Martínez, C. J. L., E. Cortez. 2008. **El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* amenaza la producción citrícola de México**. *Memorias XI Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas*. Mexicali, Baja California, México. 8-13.
- Miranda, I., H. Baños, Y. Pérez, M. de A. Martínez. 2011. **Patrón espacial y parámetros de crecimiento de *Diaphorina citri* Kuwayama y su parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston sobre *Murraya paniculata***. *Revista de Protección Vegetal*. 26: 100-104.

- Miranda, M. A., J. I. López. 2010. **Avance de investigación para el manejo del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama en Michoacán, México.** En: *Memorias del Segundo Simposio Nacional sobre la investigación para el manejo del psílido asiático de los cítricos y el Huanglongbing en México.* Texcoco, Estado de México, México. 149-155.
- Mondaca, E. C., N. E. Angulo, J. P. Márquez, M. A. Sánchez. 2011. **Primer reporte de enemigos naturales y parasitismo sobre *Diaphorina citri* Kuwayama en Sinaloa, México.** *Revista Científica UDO Agrícola.* 11: 97-103.
- Montoya, P., J. Toledo. 2010. **Estrategias de control biológico.** En: *Moscas de la Fruta: Fundamentos y Procedimientos para su Manejo.* P. Montoya., J. Toledo., E. Hernández (eds.) *S y G editores*, México, D.F, México. 13 p.
- Morales, A. S. I., A. M. Martínez, J. I. Figueroa, A. M. Espino, J. M. Chavarrieta, R. Ortiz, S. Pineda. 2013. **Parámetros de vida del parasitoide sinovigénico *Tamarixia triozae* (Hymenoptera: Eulophidae).** *Revista Colombiana de Entomología.* 39: 243-249.
- Moreno, G., J. A. Sánchez, H. C. Arredondo. 2014. **Seguimiento de las liberaciones de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) dentro del programa Arcos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae).** Disponible en [http://www.imok.ufl.edu/hlb/database/pdf/24\\_MorenoCarrillo\\_15.pdf](http://www.imok.ufl.edu/hlb/database/pdf/24_MorenoCarrillo_15.pdf). (Accesado el 06 octubre de 2015).
- Moreno, I. P., R. C. Rioja, V. Marco. 2010. **Insecticidas para el control de la polilla del racimo de la vid: aspectos destacables para una utilización adecuada.** *Revista Agropecuaria.* 929: 382-386.
- Muñoz, A. 2015. **Principios de urgencias, emergencias y cuidados críticos.** (Disponible en <http://tratado.uninet.edu/indautor.html>). (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Nicholls, C. I. 2006. **Bases agroecológicas para diseñar e implementar una estrategia de manejo de hábitat para control biológico de plagas.** *Agroecología.* 1: 37-48.
- Onagbola, E. O., D. R. Boina. S. L. Hermann. L. L. Stelinski. 2009. **Antennal sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae).** *Annals of the Entomological Society of America.* 102: 523–531.
- Ortega, L. D., Á. Villegas, A. J. Ramírez, E. E. Mendoza. 2013. **Abundancia estacional de**

- Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) en plantaciones de cítricos en Cazones, Veracruz, México.** *Acta Zoológica Mexicana*. 29: 317-333.
- Paiva, P. E., J. R. Parra. 2012. **Natural parasitism of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera, Psyllidae) nymphs by *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera, Eulophidae) in Sao Paulo orange groves.** *Revista Brasileira de Entomologia*. 56: 499-503.
- Pardo, S. 2013. **Dinámica poblacional del psílido asiático de los cítricos en asociación con otros cultivos en el Valle de Apatzingán.** Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico del Valle de Morelia, Morelia, Michoacán. 40 p.
- Peña, K. I. 2012. **Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) en los estados de Colima, Nuevo León, Tamaulipas y Michoacán, México.** Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México. 58 p.
- Peter, C., P. Nagarathinam, B.V. David. 1990. **Note on the natural enemies of *Psylla hialina* (Homoptera: Psyllidae) on *Albizia lebbek*.** *Entomophaga*. 35: 659-560.
- Poltronieri, A. S. 2013. **Bases para o manejo da resistência de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) ao inseticida neonicotinoide imidacloprid em pomares de citros.** Tesis de Maestría. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba, Brasil. 127 p.
- Qureshi, J. A., M. E. Rogers, D. G. Hall, D. P. A. Stansly. 2009. **Incidence of invasive *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) and its introduced parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Florida citrus.** *Journal of Economic Entomology*. 102: 247-256.
- Richard, W. H., A. Escribano, J. P. Michaud, P. A. Stanscy. 2005. **Potential impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Puerto Rico.** *Florida Entomologist*. 88: 123-128.
- Robles, M. M., J. J. Velázquez, M. Á. Manzanilla, M. Orozco, V. M. Medina, J. I. López, R. Flores. 2013. **Síntomas del Huanglongbing (HLB) en árboles de limón mexicano [*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle] y su dispersión en el estado de Colima, México.** *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 19: 15-31.

- Sánchez, J. A., G. Moreno, J. González, H. C. Arredondo. 2012. **Parasitismo de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en áreas urbanas de la zona citrícola del estado de Colima.** Disponible en [http://www.researchgate.net/profile/Jaime\\_Gonzalez-Cabrera/publication/266138264\\_Parasitismo\\_de\\_Tamarixia\\_radiata\\_\(Hymenoptera\\_Eulophidae\)\\_sobre\\_Diaphorina\\_citri\\_Kuwayama\\_\(Hemiptera\\_Psyllidae\)\\_en\\_reas\\_urbanas\\_de\\_la\\_zona\\_citricola\\_de\\_Colima/links/547783e60cf2a961e4839c32.pdf](http://www.researchgate.net/profile/Jaime_Gonzalez-Cabrera/publication/266138264_Parasitismo_de_Tamarixia_radiata_(Hymenoptera_Eulophidae)_sobre_Diaphorina_citri_Kuwayama_(Hemiptera_Psyllidae)_en_reas_urbanas_de_la_zona_citricola_de_Colima/links/547783e60cf2a961e4839c32.pdf). (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2014. **Producción anual del cultivo de cítricos.** Disponible en <http://www.siap.gob.mx>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Skelley L., M. Hoy. 2004. **A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine.** *Biological Control*. 29:14-23.
- Stapel, J., A. Cortesero, W. Lewisb. 2000. **Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides.** *Biological Control*. 17: 243-249.
- Suarez, J. M. 2015. **Control de piojo harinoso y *Diaphorina citri*.** Disponible en: <http://www.concitver.com/archivosenpdf/diaphorina%20citri.pdf>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Talebi, K., A. Kavousi, Q. Sabahi. 2008. **Impacts of pesticides on arthropod biological control agents.** *Pest Technology*. 2: 87-89.
- Tiwari, S., R. Mann, M. E. Rogers, L. L. Stelinski. 2011a. **Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida.** *Pest Management Science*. 67: 1258-1268.
- Tiwari, S., K. Pelz, R. Manny, L. Stelinski. 2011b. **Glutathione transferase and cytochrome P<sub>450</sub> (General Oxidase) activity levels in *Candidatus Liberibacter Asiaticus*-infected and uninfected Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae).** *Annals of the Entomological Society of America*. 104: 297-305.
- Tiwari, S., L. Stelinski, M. E. Rogers. 2012. **Biochemical basis of organophosphate and**



- carbamate resistance in Asian citrus psyllid. *Journal of Economic Entomology*. 105: 540-548.
- Torres, P. I., J. I. López, J. A. Aguirre, R. G. Guevara, R. Yáñez, M. I. Hernández, J. A. Quijano. 2013. **Potential distribution in México of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) vector of Huanglongbing pathogen.** *Florida Entomologist*. 96: 36-47.
- Tremblay, E., A. Bélanger, M. Brosseau, G. Boivin. 2008. **Toxicity and sublethal effects of an insecticidal soap on *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae).** *Pest Management Science*. 64: 249-254.
- Trivers, R. L., D. E. Willard. 1973. **Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring.** *Science*. 179: 90-92.
- Trujillo, J., H. M. Sánchez, P. L. Robles. 2008. **Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos en México.** Disponible en: <http://www.concitver.com/huanglongbingYPsilidoAsiatico/Memor%C3%ADa-15%20Trujillo.pdf>. (Accesado el 08 de octubre de 2015).
- Tsai, J. H., J. J. Wang, Y. H. Liu. 2000. **Sampling of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on orange jessamine in southern Florida.** *Florida Entomologist*. 83: 446-459.
- Vázquez, M., J. Velázquez, V. M. Medina, C. D. Cruz, M. Sandoval, G. Virgen., J. P. Torres. 2013. **Insecticide resistance in adult *Diaphorina citri* Kuwayama1 from lime orchards in central west México.** *Southwestern Entomologist*. 38: 579-596.
- Vega, J. L. 2013. **Biología de *Tamarixia triozae* Burks (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Bactericera cockerelli* Sulc a diferentes temperaturas.** Tesis de maestría, Colegio de Posgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México. 30 p.
- Villavaso, E. J., W. L. McGovern, J. E. Mulrooney, P. Dugger, D. Richter. 2000. **Malathion and boll weevil eradication: application rates, mistblower effectiveness, and bait stick quality evaluation.** En: *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*, San Antonio, Texas, USA. 2: 1067-1069.
- Viñuela, E. 2011. **La importancia de la compatibilidad de enemigos naturales y plaguicidas en los modernos sistemas productivos.** Disponible en [http://oa.upm.es/12456/2/INVE\\_MEM\\_2011\\_104995.pdf](http://oa.upm.es/12456/2/INVE_MEM_2011_104995.pdf). (Accesado el 06 de octubre de 2015).

Yu-qing, T., H. Zhi-peng, 1991. **Studies on the biology of two primary parasites of *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae)**. En: *Proceeding of the 6<sup>th</sup> International Asia Pacific Workshop on Integrated Citrus Health Management*. Kuala Lumpur, Malaysia. 91-98.