

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**Abundancia poblacional del psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama  
(Hemiptera: Liviidae) y su control en cultivo de limón persa en el departamento de  
Jutiapa, Guatemala**

**Ernesto Fernando Rivera Valverth**  
**Biólogo**

**Guatemala, noviembre de 2018**

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**Abundancia poblacional del psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama  
(Hemiptera: Liviidae) y su control en cultivo de limón persa en el departamento de  
Jutiapa, Guatemala**

**Informe de Tesis**

**Presentado por**

**Ernesto Fernando Rivera Valverth**

**Para optar al título de**

**Biólogo**

**Guatemala, noviembre de 2018**

**Nómina de Integrantes de Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Químicas y  
Farmacia**

Doctor Rubén Dariel Velásquez Miranda, Decano

M.A. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, Secretaria de Facultad

M.Sc. Miriam Carolina Guzmán Quilo, Vocal Primero

Doctor Juan Francisco Pérez Sabino, Vocal Segundo

Licenciado Carlos Manuel Maldonado Aguilera, Vocal Tercero

Bachiller Byron Enrique Pérez Díaz, Vocal Cuarto

Bachiller Pamela Carolina Ortega Jiménez, Vocal Quinto

## AGRADECIMIENTOS

Deseo manifestar un sincero agradecimiento a las personas que brindaron su colaboración durante el desarrollo del estudio.

A mis padres Fernando y Jeannette, por su apoyo incondicional durante mis años de educación.

A Melisa Ojeda por su valiosa asesoría en el diseño y ejecución del estudio.

A Jorge Jiménez por su asesoría en la elaboración de la presente tesis.

A Maura Quezada y Rosario Rodas del Herbario USCG del Centro de Estudios Conservacionistas por facilitarnos equipo de microscopía para el estudio de hongos. A la División de Ciencia y Tecnología de CUNOC, por facilitar equipo de microscopía y materiales para la determinación taxonómica de hongos. Al laboratorio de Agroindustrias Succeso S. A. por facilitar hongos entomopatógenos. Al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación por sus aportes al estudio. A Enio Cano por la revisión del documento final.

## INDICE

RESUMEN	7
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	10
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
2.2 MARCO TEÓRICO	11
2.2.1 MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS	11
2.2.2 CONTROL BIOLÓGICO	12
2.2.3 CONTROL CULTURAL	13
2.2.4 CONTROL QUÍMICO	14
2.2.5 ENFERMEDAD DEL REVERDECIMIENTO DE LOS CÍTRICOS (HLB)	15
2.2.6 DETECCIÓN DE VECTORES DEL HLB	17
2.2.7 PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS	18
2.2.7.1 DISTRIBUCION	18
2.2.7.2 DESCRIPCIÓN Y CICLO DE VIDA	19
2.2.7.3 HUEVOS	19
2.2.7.4 NINFAS	20
2.2.7.5 ADULTOS	20
2.2.8 ENEMIGOS NATURALES DE <i>Diaphorina citri</i>	21
2.2.9 PARASITOIDE <i>Tamarixia radiata</i> Waterston (Hymenoptera: Eulophidae)	22
2.2.10 BIOLOGÍA DE <i>Tamarixia radiata</i> Waterston	23
2.2.11 INSECTICIDA BIOLÓGICO <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Clavicipitaceae)	24
2.2.12 INSECTICIDA BIOLÓGICO <i>Metarhizium anisopliae</i> (Metschnikoff) Sorokin	26
2.2.13 INSECTICIDA BIOLÓGICO <i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson (Eurotiales: Trichocomaceae)	26
2.2.14 INSECTICIDA PIRETROIDE LAMBDA-CIHALOTRINA	27
2.2.15 INSECTICIDA ABAMECTINA	28
2.2.16 DETERGENTE KABONIM	28
2.2.17 INSECTICIDA ÁCIDO BÓRICO	29
2.2.18 FUNGICIDA FOSETIL ALUMINIO	30
2.2.19 CONCEPTOS RELEVANTES	30
2.2.19.1 ABUNDANCIA POBLACIONAL	30

2.2.19.2 FACTORES EXÓGENOS VINCULADOS AL DESARROLLO DE LOS PSÍLIDOS	31
2.2.19.3 TEMPERATURA	31
2.2.19.4 HUMEDAD RELATIVA	32
2.2.19.5 FOTOPERÍODO	32
3. JUSTIFICACIÓN	33
4. OBJETIVOS	34
4.1 GENERAL	34
4.2 ESPECÍFICOS	34
5. HIPÓTESIS	34
6. MATERIALES Y MÉTODOS	35
6.1 UNIVERSO DE ESTUDIO	35
6.2 MUESTRA	35
6.3 VARIABLES DE ESTUDIO	35
6.4 MATERIALES	35
6.5 ÁREA DE ESTUDIO	36
6.6 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	40
6.6.1 MONITORIZACIÓN DE PSÍLIDOS ADULTOS CON TRAMPAS CROMÁTICAS	40
6.6.1.1 MONITORIZACIÓN MEDIANTE TRAMPAS PERIFÉRICAS	40
6.6.1.2 MONITORIZACIÓN MEDIANTE TRAMPAS ASOCIADAS A ARBOLES	40
6.6.2 MONITORIZACIÓN DE BROTES INFESTADOS POR <i>Diaphorina citri</i>	41
6.6.3 PARASITISMO DE <i>Tamarixia radiata</i>	42
6.6.4 AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	42
6.7.1.2 ANÁLISIS DE CORRELACION DE VARIABLES AMBIENTALES	44
6.7.2 ANÁLISIS DE VARIABLES CLIMÁTICAS	44
7. RESULTADOS	45
7.1 Abundancia de ninfas en parcelas de monitorización del psílido <i>D. citri</i>	45
7.2 Monitorización de psílicos adultos por trampas cromáticas	47
7.3 Abundancia mensual de ninfas de <i>D. citri</i>	49
7.4 Abundancia de ninfas en parcela con manejo integrado de plagas	50
7.5 Abundancia de ninfas en brotes vegetativos	51
7.6 Análisis de variables ambientales	53
7.7 Parasitismo de <i>T. radiata</i> en la población de <i>D. citri</i> .	54
8. DISCUSION	55

8.1 EFECTIVIDAD DE CAPTURA DE PSILIDOS EN TRAMPAS CROMATICAS	55
8.2 ABUNDANCIA POBLACIONAL DE <i>Diaphorina citri</i> EN BROTES VEGETATIVOS	56
8.2.1 ABUNDANCIA DE <i>Diaphorina citri</i> EN PARCELA MIP	56
8.2.2 ABUNDANCIA DE <i>Diaphorina citri</i> EN PARCELA SIN MIP	59
8.3 PARASITISMO POR <i>Tamarixia radiata</i>	61
8.4 MUTUALISMO ENTRE HORMIGAS Y PSILIDOS	63
8.5 EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN LA POBLACIÓN DE <i>D. citri</i>	64
9. CONCLUSIONES	65
10. RECOMENDACIONES	67
11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	69
12. ANEXOS	89
Anexo 1. Ciclo de vida de <i>Diaphorina citri</i> .	89
Anexo 2. Parasitoide <i>Tamarixia radiata</i> Waterston (Hymenoptera: Eulophidae).	90
Anexo 3. Ninfas de <i>D. citri</i> parasitadas por <i>Tamarixia radiata</i> .	91
Anexo 4. Parcela de limón persa para monitorización de <i>D. citri</i> bajo tratamiento de manejo integrado de plagas.	91
Anexo 5. Parcela de limón persa para monitorización de <i>D. citri</i> sin tratamiento de manejo integrado de plagas.	93
Anexo 6. Trampas cromáticas para la captura de psílidos adultos.	94
Anexo 7. Inspección de brotes infestados con <i>D. citri</i> .	95
Anexo 8. Eventos de liberación de <i>Tamarixia radiata</i> en parcela con manejo integrado de plagas durante 2015 y 2016.	96
Anexo 9. Autocorrelación de serie abundancia de huevos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela MIP durante 2015 y 2016.	97
Anexo 10. Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> en parcela MIP durante 2015 y 2016.	97
Anexo 11. Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> susceptibles de parasitismo en parcela MIP durante 2015 y 2016.	99
Anexo 12. Autocorrelación de serie abundancia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela MIP durante 2015 y 2016.	99
Anexo 13. Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> parasitadas en parcela MIP durante 2015 y 2016.	101
Anexo 14. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de huevos de <i>Diaphorina</i> <i>citri</i> en parcela MIP durante 2015 y 2016.	101

Anexo 15. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> en parcela MIP durante 2015 y 2016.	102
Anexo 16. Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> susceptibles de parasitismo en parcela MIP durante 2015 y 2016.	103
Anexo 17. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela MIP durante 2015 y 2016.	103
Anexo 18. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> parasitadas en parcela MIP durante 2015 y 2016.	104
Anexo 19. Autocorrelación de serie abundancia de huevos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	105
Anexo 20. Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	105
Anexo 21. Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> susceptibles de parasitismo en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	106
Anexo 22. Autocorrelación de serie abundancia de psílicos adultos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	107
Anexo 23. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de huevos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	108
Anexo 24. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	109
Anexo 25. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> susceptibles de parasitismo en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	110
Anexo 26. Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de adultos de <i>Diaphorina citri</i> en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	110
Anexo 27. <i>Metarrizhium anisopliae</i> aislado de psílicos adultos de la parcela MIP.	111
Anexo 28. <i>Paecilomyces lilacinus</i> aislado de psílicos adultos de la parcela MIP.	112
Anexo 29. Correlación de Spearman entre la abundancia de ninfas y las variables temperatura °C y humedad relativa en la parcela MIP.	113
Anexo 30. Correlación de Spearman entre la abundancia de ninfas y las variables temperatura °C y humedad relativa en la parcela sin MIP.	113
Anexo 31. Climadiagrama del área de estudio	114
Anexo 32. Diagrama de infección de HLB en plantación de <i>Citrus aurantifolia</i> var. <i>tahiti</i> durante 2015 y 2016.	115
Anexo 33. Abundancia promedio de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> y variables ambientales en parcela MIP durante 2015 y 2016.	116
Anexo 34. Abundancia promedio de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> y variables ambientales en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.	117



## RESUMEN

La citricultura en la región de Centroamérica y el Caribe se encuentra bajo presión por implementar estrategias para el control y monitorización del psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Este es el principal vector de la destructiva enfermedad bacteriana del reverdecimiento de los cítricos (HLB). En respuesta a esta amenaza el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA) y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) han implementado un programa de manejo integrado de cítricos para estudiar la dinámica de las poblaciones y la eficacia de las medidas de control biológico en plantaciones nacionales. En este estudio de caso se determinó la abundancia poblacional de *D. citri* en cultivos de limón persa bajo manejo integrado de plagas (MIP). Además, se establecieron diferencias en la abundancia de *D. citri* al comparar parcelas sometidas a condiciones de manejo opuestas.

Para ello se estudiaron las poblaciones del psílido en dos parcelas en Jalpatagua, Jutiapa durante el 2015 y 2016. La abundancia poblacional se analizó mediante series de tiempo y autocorrelaciones. En la parcela con MIP el crecimiento poblacional ocurre en agosto (n=437), octubre (n=629), junio (n=1187) y julio (n=473). A pesar de las múltiples aplicaciones de insecticidas biológicos dirigidas a reducir la población de *D. citri*, esta parcela presentó mayor abundancia del psílido. El programa de manejo integrado no fue efectivo para controlar su población. En comparación, los incrementos poblacionales en la parcela sin MIP ocurren en agosto (n=292), octubre (n=158), mayo (n=201) y junio (n=207). Las series de tiempo de la fluctuación poblacional son de tipo no estacionario, por los que se infiere son influenciadas por factores deterministas.

Además se determinó el efecto de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) sobre la población de *D. citri*. El porcentaje de parasitismo promedio fue de 18%. El máximo porcentaje de parasitismo observado fue de 54% durante agosto. La serie de ninfas parasitadas presento un patrón no estacionario, por lo que se infiere que el parasitoide tuvo un efecto sobre la abundancia poblacional de *D. citri*. Los datos demuestran que la aplicación del parasitoide *T. radiata* debe realizarse en conjunto con medidas que eviten las interacciones mutualistas entre hormigas y psílicos. Se obtuvieron resultados positivos al emplear mecanismos disuasivos con ácido bórico en los árboles de la plantación.

## 1. INTRODUCCIÓN

La citricultura en la región de Centroamérica y el Caribe tiene gran importancia socioeconómica. Se estima que abarca 700 mil hectáreas de cultivos, los cuales representan una producción de US\$ 1,300 millones y la generación de aproximadamente 439 mil empleos (OIRSA, 2014). Actualmente este gremio se ve amenazado por una devastadora infección de origen asiático, el reverdecimiento de los cítricos, también denominado Huanglongbing (HLB) (Halbert & Manjunath, 2004, p.331; Ortega, Villegas, Ramírez & Mendoza, 2013, p. 320). Esta es ocasionada por una bacteria transmitida de un árbol a otro por insectos vectores. El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es el principal vector del HLB (Pluke, Qureshi & Stansly, 2008, p. 37; Tsai, Wang & Liu, 2002, p. 446). Las evaluaciones efectuadas por el OIRSA estiman que el HLB podría causar pérdidas dentro del rango de 50% a 80% de la producción en los próximos años (Bové, 2006, p.7; Etienne, Quilici, Marival & Franck, 2001, p. 307; OIRSA, 2014).

En un esfuerzo por controlar la enfermedad y su vector, OIRSA (2014) ha dispuesto desarrollar medidas de contingencia para prevenir su impacto en la citricultura: se ha implementado el proyecto de “Fortalecimiento de la región del OIRSA en el control del Huanglongbing y la Implementación del Manejo Integrado de Plagas en Cítricos”. Una de las estrategias impulsadas por OIRSA consiste en asociarse al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación –MAGA- del Estado de Guatemala, con el objetivo de desarrollar estudios de monitorización para determinar la fluctuación poblacional del vector y enfocarse en implementar estrategias para el control de las poblaciones en los cítricos nacionales (OIRSA, 2014).

Dentro de este marco se desarrolló el presente trabajo, con el objetivo de determinar la abundancia poblacional de *Diaphorina citri* en limón persa bajo manejo

integrado de plagas. A su vez, se determinará el efecto del parasitismo de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) en las poblaciones de *D. citri* bajo manejo integrado de plagas.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Actualmente la citricultura está bajo presión para implementar estrategias efectivas para el control y monitorización del psílido *Diaphorina citri*, principal vector del HLB (Tsai & Liu, 2000, p. 1720). El psílido es originario del este de Asia (Hall, Richardson, Ammar & Halbert, 2012, p. 208). Se ha establecido como especie exótica en 40 países en Asia, África, Oceanía y América; actualmente está presente en la mayoría de entidades productoras de cítricos en Centro y Sur América (Medina, Zapiain & Robles, 2007, p.133; Tsai & Liu, 2000, p.1921). La infección del HLB se detectó en Guatemala en 2010 (MAGA, 2015); se estima que el vector *D. citri* fue introducido en un momento cercano a dicho año (MAGA, 2015). Por lo anterior, tanto el psílido como la infección se encuentran expandiendo su área de distribución en el país (MAGA, 2015; Ramírez, 2017, p.34).

El crecimiento poblacional de *D. citri* está ligado a la producción de brotes jóvenes de la planta hospedera, a la variedad de la planta, a las condiciones ambientales locales y a la edad de la planta (Medina *et al.*, 2007, p.133; Tsai & Liu, 2000, p.1921). Dichos factores difieren entre regiones geográficas, por lo que el manejo regional de las poblaciones es una de las principales estrategias de contención de la enfermedad (Quijano, 2013, p.1; Pluke *et al.*, 2008, p. 37; Hall, 2010, p. 211). Esto amerita desarrollar técnicas de monitorización local en plantaciones como línea base para comprender su ecología y diseñar estrategias de manejo integrado del psílido y del HLB (Huang & Chen, 2014, p. 7; Ortega *et al.*, 2013, p. 320). Por tanto, es necesario desarrollar estudios para determinar la abundancia poblacional del psílido en plantaciones locales.

Para desarrollar estrategias de control eficaz, se requiere estudiar y cuantificar el control biológico que ejerce el parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston en las poblaciones de *D. citri*. Este parasitoide es ampliamente empleado en la región ya que es considerado uno de los principales enemigos naturales del psílido (Gómez, Nava & Postali, 2012, p.338; Paiva & Parra, 2012, p. 502; Hall, 2010, p. 1341).

## **2.2 MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1 MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS**

El manejo integrado de plagas (MIP) es una alternativa al manejo tradicional de plagas. Es una estrategia ante el incremento en los costos económicos y ambientales producto de la dependencia de pesticidas en la historia reciente (Ripa & Larral, 2012, p. 40). Su objetivo es combinar las técnicas de mitigación para optimizar los costos y minimizar la degradación ambiental (Hallman & Denlinger, 1999, p. 1; Ripa & Larral, 2012, p. 40). El MIP del HLB consiste en medidas fitosanitarias para suprimir las poblaciones del insecto vector y reducir el inóculo de la bacteria (Pin Lin, 2015, p. 25).

La base del manejo es el uso racional de los métodos químico, biológico y cultural para el control de insectos que dañan los cultivos (Ripa, Larral & Rodríguez, 2012, p. 41). Se define como una estrategia económicamente viable que combina varios métodos de control para reducir las poblaciones de plagas a niveles adecuados, esto minimiza los efectos adversos que pueden ocurrir sobre la salud de las personas y el ambiente (Pin Lin, 2015, p. 25; Ripa, Larral & Rodríguez, 2012, p. 40).

Entre los objetivos del MIP podemos mencionar que permite minimizar el daño de las plagas en la producción, mejorando su calidad (Ripa *et al.*, 2012, p.41), reduce el uso de plaguicidas y su impacto negativo sobre la salud de las personas y el ambiente (Ripa

*et al.*, 2012, p.41), contribuye a la sustentabilidad de la producción y a mantener la rentabilidad de los cultivos (Ripa *et al.*, 2012, p. 41)

El MIP es relevante debido a su flexibilidad y adaptabilidad a las condiciones de cada huerto. Múltiples factores como el clima, suelo, condiciones de la plantación, variedades, riego y poda, junto con el historial de aplicación de plaguicidas configuran un ambiente particular (Ripa *et al.*, 2012, p. 41). El manejo integrado de plagas se basa en el conocimiento del agroecosistema que se compone de las interrelaciones que ocurren entre plantas, plagas, enemigos naturales y ambiente (Ripa *et al.*, 2012, p. 41).

### **2.2.2 CONTROL BIOLÓGICO**

Esta práctica forma parte de las estrategias de manejo integrado de plagas. Se define como el uso de enemigos naturales de artrópodos, como parasitoides, depredadores y patógenos para reducir la densidad poblacional de insectos plaga y los daños que generan (Bale, van Lenteren & Bigler, 2008, p. 762; Hallman & Denlinger, 1999, p.130). Consiste en la liberación, incremento de poblaciones y conservación de organismos benéficos para regular las densidades poblacionales de otros organismos en el agroecosistema (Peshin & Dhawan, 2009, p.211).

En muchas instancias es evidente que una especie de insecto fue introducida accidentalmente en una nueva área geográfica ya que carece de los enemigos naturales asociados (Shea & Cresson, 2002, p. 172). El control biológico tiene por objetivo establecer poblaciones más reducidas de la plaga, de esta manera se reduce la necesidad de aplicaciones adicionales de insecticidas químicos (Dreistadt, 2014; Hallman & Denlinger, 1999, p.130). Se han implementado varios agentes de control biológico como insectos y ácaros depredadores, nemátodos, hongos, bacterias y virus (Bale *et al.*, 2008, p. 762).

En el área de estudio en Jalpatagua se desarrolló un programa de control biológico del tipo aumentativo. Este consiste en la producción comercial masiva y liberación de grandes cantidades del agente de control. En este caso se introdujo el ectoparasitoide *Tamarixia radiata* para el control de *D. citri*.

Los argumentos a favor del uso de controladores biológicos señalan que los depredadores y parasitoides de los artrópodos son altamente específicos con sus presas (Bale *et al.*, 2008, p. 763-764). Los agentes de control buscan activamente a su presa, incrementando el control ejercido con el paso del tiempo (Bale *et al.*, 2008, p. 763-764). A su vez, dicho control puede perpetuarse por largos periodos de tiempo (Bale *et al.*, 2008, p. 764).

En cambio, el uso de pesticidas químicos no solo elimina la plaga, sino también a otras especies como enemigos naturales locales (Bale *et al.*, 2008, p. 764). Los pesticidas químicos se limitan al área en donde fueron aplicados y requieren aplicaciones frecuentes por lo que las plagas pueden desarrollar resistencia (Bale *et al.*, 2008, p. 764). Además, los costos para desarrollar agentes de control biológico son más bajos que la síntesis, evaluación toxicológica y puesta en el mercado de un pesticida (Bale *et al.*, 2008, p. 764).

### **2.2.3 CONTROL CULTURAL**

Esta labor tiene por objeto generar condiciones adversas a determinadas plagas para reducir su incidencia en el cultivo. Algunas medidas culturales incorporadas en la estrategia MIP de cítricos en Jutiapa de acuerdo al protocolo de Ripa *et al.* (2012, p. 50) son:

- Eliminar ramas bajas que tocan el suelo, ya que los frutos cercanos al suelo son atacados por insectos en mayor medida (Ripa *et al.*, 2012, p. 50). Se recomienda

eliminarlos para no contar con reservorios de los estadios de otras plagas (Gómez, *et al.*, 2014, p. 36)

- Realizar podas de abertura para favorecer la entrada de luz y la circulación de aire al interior del árbol provocando un aumento de la mortalidad de estadios pequeños de diversas plagas como hemípteros (escamas y cochinillas) (Ripa *et al.*, 2012, p. 50). Esta acción favorece la mejor distribución de los plaguicidas en el interior del árbol (Ripa *et al.*, 2012, p. 50).
- Eliminar malezas que crecen en la base de los cítricos, que puedan estar infestadas con plagas para limitar la dispersión del inóculo (Ripa *et al.*, 2012, p. 50).
- Limitar la fertilización nitrogenada dado que altas dosis favorecen el ataque de hemípteros de las familias Aphididae (pulgones) y Pseudococcidae (cochinillas harinosas) y otras plagas (Ripa *et al.*, 2012, p. 50).

#### **2.2.4 CONTROL QUÍMICO**

Consiste en el uso de plaguicidas para la regulación de las plagas (Ripa *et al.*, 2012, p. 50). Esta es sólo una opción dentro de las medidas factibles de ejecutar en el MIP. Debe evaluarse considerando todos los aspectos como la identificación y análisis del problema y su entorno (monitorización), la evolución de la plaga, la evaluación de las alternativas de control disponibles y, finalmente, la selección y aplicación de una o más de ellas (Ripa *et al.*, 2012, p. 50; Robles *et al.*, 2011, p. 21).

Al optar por una medida de control químico debe elegirse un plaguicida de baja toxicidad que cumpla los requerimientos de efectividad, selectividad, bajo impacto ambiental y que posea registro en el país (Ripa *et al.*, 2012, p. 50). Además, debe considerarse la disponibilidad de la maquinaria adecuada para el tipo de producto y su



cantidad en relación con la superficie a manejar (Ripa *et al.*, 2012, p. 50; Pin Lin, 2015, p. 25).

### **2.2.5 ENFERMEDAD DEL REVERDECIMIENTO DE LOS CÍTRICOS (HLB)**

La enfermedad del reverdecimiento de los cítricos o Huanglongbing (HLB) ha tenido efectos devastadores, causando la muerte de millones de árboles en el mundo (Pin Lin, 2015, p. 11; Bové, 2006, p. 7; Halbert & Manjunath, 2004, p.331). Es considerada una enfermedad destructiva debido a la severidad de los síntomas que ocasiona, su rápida capacidad de dispersión y su impacto en todas las especies comerciales de cítricos (Ramos, 2008, p. 5). Actualmente no se cuenta con una cura para esta enfermedad (Ramos, 2008, p. 5).

Históricamente el primer reporte de síntomas de HLB se dio en la India en el siglo XVIII, anteriormente, el patógeno estaba probablemente presente en plantas nativas de rutáceas y cuando los cítricos se plantaron en áreas nuevas, los psílicos pudieron haberles transmitido la enfermedad (Ramos, 2008, p. 5). El HLB fue reportado por citricultores del sureste de China a finales del siglo XIX (Ramos, 2008, p. 5). En África del Sur esta enfermedad fue reportada por primera vez en la década de 1920 (Ramos, 2008, p. 5). La existencia de esta enfermedad en Asia y África propició que se dispersara hacia varios países de ambos continentes a través de los años (Ramos, 2008, p. 5).

En el Nuevo Mundo el HLB se detectó en 2004 en Sao Paulo, Brasil; en 2005 en Florida, EUA; en 2009 en Belice, Honduras y en Yucatán, México (Ortega *et al.*, 2013, p.317). De acuerdo con los datos oficiales en México, la dispersión del HLB representa una seria amenaza para las 549 mil hectáreas de cítricos establecidas en el país, lo que significa una producción de 7 millones de toneladas anuales, con valor económico de 465 millones de dólares (Salcedo, Gonzáles, Rodríguez, Vera, Múzquiz & Hurtado, 2012, p.

25). En México, la enfermedad se registra en huertos comerciales y principalmente en plantas de traspatio en los Estados de Yucatán, Quintana Roo, Nayarit, Campeche, Colima, Sinaloa, Michoacán, Chiapas, Baja California Sur, Hidalgo y San Luis Potosí (SENASICA, 2012).

En 2010 se detectó en Guatemala la presencia de la infección del HLB junto con su principal vector *D. citri* (Pin Lin, 2015, p. 13). En el territorio nacional la infección está presente y se encuentra en riesgo de expandirse en todas las principales áreas de producción citrícola, especialmente en aquellas localizadas por debajo de 1800 msnm que es donde se dan condiciones para la reproducción de *D. citri* (Pérez, A., comunicación personal, 2016). Las plantaciones se encuentran en la región central, en el oriente y en la planicie costera del Pacífico. El riesgo de expansión de la infección se incrementa debido a la ausencia de un manejo integrado del vector (Pérez, A., comunicación personal, 2016). En la región, se tiene como referencia el estudio de Ramírez (2016), donde reporta una muestra de tejido vegetal infectada por *Candidatus Liberibacter* sp. Este hallazgo se efectuó en las parcelas de monitorización del MAGA en el departamento de Jutiapa (Ramírez, 2016, p. 22).

Los síntomas del HLB están asociados con la presencia de una alfa proteobacteria, del tipo Gram-negativa (Rhizobiaceae), la cual está restringida al floema de las plantas hospederas y que es conocida como *Candidatus Liberibacter Jagoueix et al.* (1997) (Hall, *et al.*, 2012, p. 207; Michaud, 2004, p. 260, Ramírez, 2017, p.24). Actualmente se han descrito tres especies de esta bacteria: 1) *Ca. Liberibacter asiaticus* Jagoueix, que está ampliamente distribuida en plantaciones de cítricos en Asia y recientemente en Brasil, Florida, México y El Caribe. 2) *Ca. Liberibacter africanus* Jagoueix, especie registrada en algunas regiones citrícolas de África; y 3) *Ca. Liberibacter americanus* Jagoueix, que fue detectada en Brasil y recientemente en Asia. El género *Ca.*

Liberibacter se distribuye de manera heterogénea en el floema de la corteza, en la nervadura central de las hojas, en raíces, en diferentes partes florales y en frutos (Robles *et al.*, 2013, p. 16; Bové, 2006, p. 7). La categoría *Candidatus* se utiliza para describir taxones cuya posición filogenética está pendiente de establecerse, debido a que no se ha descrito el genoma completo del microorganismo. Esta bacteria no ha sido cultivada en laboratorio (Parker, Tindall & Garrity, 2015, p.135).

La transmisión del HLB la realizan los insectos vectores: *Diaphorina citri* Kuwayama y *Trioza erytrae* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae) (Hall *et al.*, 2012, p. 212; Ramos, 2008, p. 7); pero también puede transmitirse por yemas infectadas en injertos (Ramos, 2008, p. 5; Tapia & Esquivel, 2009, p. 8). Se ha descubierto que la distribución de las bacterias en el árbol infectado puede ser irregular, por lo que no todas las yemas contendrán la bacteria o transmitirán la enfermedad (Ramos, 2008, p. 7). En el caso de injertos, al utilizar una mayor cantidad de tejido del floema en el inóculo, mayor será la probabilidad de transmisión de la enfermedad por injerto (Ramos, 2008, p. 7).

#### **2.2.6 DETECCIÓN DE VECTORES DEL HLB**

Como medida fitosanitaria se promueve desarrollar vigilancia y monitorización, así como efectuar encuestas específicas para la detección de los vectores del HLB, *Diaphorina citri* y *Trioza erytrae* (Tapia & Esquivel, 2009, p. 9). Estos vectores se deben buscar en los tejidos meristemáticos tiernos o retoños de las plantas, en las principales plantaciones de cítricos, en plantas ornamentales y plantas hospedantes rutáceas, principalmente en *Murraya paniculata* (L.) Jack (Rutaceae, Rutales) (mirto, limonaria o jazmín) y *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr. (Rutaceae, Rutales) (limoncillo) (Tapia & Esquivel, 2009, p. 9). La detección de vectores se puede realizar simultáneamente con la detección de síntomas de la bacteria (Tapia & Esquivel, 2009, p. 9).

### 2.2.7 PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS

A nivel mundial *Diaphorina citri* es el insecto plaga más importante de los cítricos (Hall *et al.*, 2012, p. 207). Es una especie exótica reconocida en la Lista Gris de Especies Exóticas en Guatemala (CONAP, 2011, p. 95). Posee capacidad de transmitir las bacterias *Ca. Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. africanus* y *Ca. L. americanus*, agentes causales de la enfermedad Huanglongbing HLB o reverdecimiento de los cítricos (Hall *et al.*, 2012, p. 207; Nava, Torres & Rodríguez, 2007, p. 713). El psílido tiene preferencia exclusiva por plantas de la familia Rutaceae y su reproducción es dependiente de la disponibilidad de brotes jóvenes pequeños u hojas tiernas recién expandidas (Ortega *et al.*, 2008, p. 319). Los adultos y ninfas deben alimentarse de brotes tiernos para madurar sus huevos y completar su desarrollo (Ortega *et al.* 2008, p. 319). Los adultos también pueden alimentarse y sobrevivir por varios meses en hojas completamente desarrolladas (Ortega *et al.*, 2008, p. 319). Las ninfas del tercer y cuarto estadio de desarrollo, así como los adultos tienen la capacidad de transmitir la bacteria (Tapia & Esquivel, 2009, p. 58; Hall, 2010, p. 1341).

#### 2.2.7.1 DISTRIBUCION

El psílido posee una amplia distribución, superando el área ocupada por el HLB. Se encuentra presente en Asia, África, Norte y Sudamérica, Centroamérica, islas del Caribe y Oceanía (Hall, 2010, p. 208). Los reportes históricos del psílido en América lo sitúan en Brasil en el año 1940, luego se dispersó hacia Argentina, Venezuela, Bahamas, Islas Caimán, hasta llegar a Florida, EE. UU (Hall, 2010, p. 208).

En 1998 se reportó la detección de *D. citri* en Florida y Guadalupe, en los años siguientes el vector se diseminó por el Caribe y Sudamérica (Halbert & Núñez, 2004, p.402). Posteriormente en el 2004 se encontraron bacterias *Ca. Liberibacter* asociadas al HLB en Brasil y en Florida en 2005 (Hall, 2010, p. 208; Ortega *et al.*, 2013, p. 319).

Actualmente *D. citri* está establecido en todas las entidades productoras de cítricos en Centro y Sudamérica (Ortega *et al.*, 2013, p. 319), en algunos estados de EE. UU. (Florida, Luisiana, Georgia, Mississippi, Arizona, Alabama, Carolina del Sur, Texas y Hawaii) y México (Hall, 2010, p. 208; da Graça *et al.*, 2008, p. 22). En Guatemala los primeros reportes del psílido se registran en 2010, aunque su introducción probablemente sea anterior (Pérez, A., comunicación personal, 2016; MAGA, 2015).

### **2.2.7.2 DESCRIPCIÓN Y CICLO DE VIDA**

Los psílicos son pequeños insectos de 2.7-3.3 mm de longitud con metamorfosis simple, pasando por varias etapas ninfales hasta llegar al estado adulto (Anexo, Fig.1) (Hall *et al.*, 2012, p. 209). El desarrollo de huevo a adulto varía con la temperatura, se estima es de 14.1 días a 28°C y se extiende hasta 49.3 días a 15°C (Hall *et al.*, 2012, p. 209). El tiempo generacional es de 20-22 días a 25°C (Hall *et al.*, 2012, p. 209). La humedad, temperatura y la planta hospedera son factores determinantes para el desarrollo y supervivencia del psílido (Hall *et al.*, 2012, p. 209). Las poblaciones del psílido decrecen en densidad cuando los cítricos no presentan brotes vegetativos (Grafton & Godfrey, 2006, p.2; Ortega *et al.*, 2013, p. 318; Tapia y Esquivel, 2009, p. 60).

### **2.2.7.3 HUEVOS**

Las hembras ovipositan huevos amarillo-naranja brillante en los extremos de brotes y hojas en desarrollo (Tsai & Liu, 2000, p. 1722). Estos miden 0.3 mm de longitud y poseen forma ovoide (Anexo Fig. 1) (Hall *et al.*, 2012, p. 209). Los huevos recién ovipositados son de color amarillo mate, luego adquieren un color amarillo naranja a medida que se acerca el momento de la eclosión (Hall *et al.*, 2012, p. 209; Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). El número de huevos ovipositados depende de la planta nutricia

(Tsai & Liu, 2000, p.1725; Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). A temperatura de 25°C los huevos eclosionan en 4 días (Tsai & Liu, 2000, p.1921; Mead & Fasulo, 2014).

#### **2.2.7.4 NINFAS**

Las ninfas del primer estadio son diminutas, de color amarillo claro, con tres pares de patas (0.25-1.7 mm) (Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). Se desplazan lentamente y se alimentan exclusivamente de brotes meristemáticos (Hall *et al.*, 2012, p. 209). Al alimentarse, las ninfas producen túbulos de excreción cerosa o mielecilla (Hall *et al.*, 2012, p. 209). Existen cinco estadios ninfales de apariencia semejante, estos incrementan de tamaño durante cada muda (Anexo Fig. 1) (Tapia & Esquivel, 2009, p. 58). Los últimos estadios poseen almohadillas alares (Tapia & Esquivel, 2009, p. 60). Las ninfas deben tener disponibilidad de brotes vegetativos para sobrevivir (Tapia & Esquivel, 2009, p. 60; Mead & Fasulo, 2014).

#### **2.2.7.5 ADULTOS**

Los adultos son grisáceos (Anexo Fig. 1) y se alimentan en el envés de las hojas (Tapia & Esquivel, 2009, p. 57). Poseen tres combinaciones de colores abdominales distintivos (gris/marrón, azul/verde y naranja/amarillo) (Hall *et al.*, 2012, p. 209). Se alimentan y descansan con sus cabezas inclinadas hacia abajo, casi tocando la superficie de la hoja. Sus cuerpos forman un ángulo de 45° respecto a la hoja (Hall *et al.*, 2012, p. 209; Tapia & Esquivel, 2009, p. 62). El tiempo de vida de los adultos se estima entre uno y dos meses, de acuerdo a la temperatura y la planta nutricia (Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). Las hembras tienen una longevidad promedio de 39.6 a 47.5 días a una temperatura de 25°C, pueden vivir por varios meses esperando hasta que llegue el periodo de brotación de las plantas hospedantes (Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). Los apareamientos se realizan después de uno a tres días de la emergencia y en condiciones favorables,

caracterizadas por la presencia de brotes en las plantas (Tapia & Esquivel, 2009, p. 57). Un día después del apareamiento comienza la ovoposición (Tapia & Esquivel, 2009, p. 57).

Las hembras grávidas se reconocen por su abdomen de color amarillo-anaranjado brillante (Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). Los adultos se pueden encontrar en condiciones naturales durante todo el año, depositando sus huevos siempre que hayan brotes disponibles (Tapia & Esquivel, 2009, p. 59). El periodo de oviposición es de 17 a 60 días (Tapia & Esquivel, 2009, p. 59; Mead & Fasulo, 2014).

### **2.2.8 ENEMIGOS NATURALES DE *Diaphorina citri***

De acuerdo a Ortega *et al.* (2013, p. 319) y Michaud (2002, p. 828) entre sus principales enemigos naturales presentes en México están el parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae); los depredadores: *Cycloneda sanguinea* (L.), *Chilocorus cacti* (L.) y *Exochomus cubensis* (Coleoptera: Coccinellidae), *Chrysopa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae) y *Ocyrtamus* sp. (Diptera: Syrphidae).

En México se reporta además a *Scymnus distinctus* Casey (Coleoptera: Coccinellidae) (Ortega *et al.*, 2013, p. 319). Se registró una reducción del 80-100% de las poblaciones de estados inmaduros del psílido por efecto de dichos insectos. Su mayor incidencia ocurre durante la primavera y verano, pero está casi ausentes durante el invierno, lo cual está íntimamente relacionado con los patrones de crecimiento y abundancia del psílido (Michaud, 2004, p.274).

Además, se reporta el uso de los hongos entomopatógenos *Hirsutella citriformis* Speare (Hypocreales: Ophiocordycipitaceae), *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae), *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) e *Isaria*

sp. (Hypocreales: Cordycipitaceae) para el control de *D. citri* (Lezama *et al.*, 2012, p. 81; López *et al.*, 2008, p. 329).

### **2.2.9 PARASITOIDE *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae)**

Los parasitoides son insectos cuyas larvas se desarrollan dentro del cuerpo de otros artrópodos, causando la muerte del insecto hospedero. Requieren de un solo hospedero para completar su desarrollo. En su mayoría pertenecen al orden Hymenoptera y Diptera (Godfray, 2004, p.1). La avispa *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) es un ectoparasitoide originario de la India (Hall, 2010, p.2). Es el principal enemigo natural del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Ortega *et al.*, 2013, p. 319). Su alta efectividad de parasitismo y elevada tasa de establecimiento han propiciado su introducción en diversos países para el control biológico de las poblaciones de *D. citri* (Hall *et al.*, 2012, p. 214). A pesar de ser un controlador del psílido, existe riesgo de perturbar las interacciones en el ecosistema nativo con la introducción de una especie exótica (Mochizuki, 2010, p. 168; Simberloff & Stiling, 1996, p.1965).

Actualmente el parasitoide se distribuye en Brasil, China, Guadalupe, Indonesia, Arabia Saudi, Indonesia, Mauricio, México, Paquistán, Filipinas, Nepal, Taiwán, Vietnam, Puerto Rico y los Estados Unidos (Chen & Stansly, 2014, p. 1405; Étienne, Quilici, Marival, Franck, 2001, p. 307). En Centroamérica el Laboratorio de Producción de Artrópodos MIC S.A. es el único centro productor y distribuidor de *T. radiata* autorizado por el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola -ICTA- y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación de Guatemala (MAGA, 2015). En la parcela de estudio, el programa de Fortalecimiento de Sanidad Vegetal del MAGA realizó liberaciones del parasitoide a partir de 2015.



### 2.2.10 BIOLOGÍA DE *Tamarixia radiata* Waterston

Los adultos son pequeñas avispas negras (0.92-1.04 mm de longitud) con ojos rojos separados (Anexo Fig. 2) (Onagbola, Boina, Hermann & Stelinski, 2009, p. 523). Sus alas son hialinas con venación amarilla pálida (Onagbola *et al.*, 2009, p. 523). El dimorfismo sexual es marcado entre adultos; los machos poseen antenas 1.5 veces más largas que las de la hembra (Onagbola *et al.*, 2009, p. 523). Los machos son más pequeños que las hembras en longitud total y extensión de alas (Onagbola *et al.*, 2009, p. 523).

Las hembras poseen un ovipositor poco protruido, ovipositan uno o dos huevos debajo de ninfas de *D. citri* (Chen & Stansly, 2014, p. 1406). Las larvas se alimentan de la hemolinfa del sitio de fijación hasta consumirla y matar a la ninfa (Anexo Fig. 3) (Chen & Stansly, 2014, p. 1406). Usualmente tan solo una larva alcanza la adultez (Chen & Stansly, 2014, p. 1408). Luego las pupas se desarrollan dentro de la ninfa y los adultos emergen a través de un agujero conspicuo en el tórax o cabeza de la ninfa momificada (Chen & Stansly, 2014, p. 1406). Una hembra adulta puede producir en promedio 115 ninfas momificadas; a una temperatura de 25-30°C puede oviponer 300 huevos (Étienne *et al.*, 2001, p. 310; Onagbola *et al.*, 2009, p. 523). El periodo de desarrollo desde huevo a adulto se completa en 11.4 días bajo condiciones experimentales (26 ± 1°C, H.R.70%) (Hoy, Nguyen & Jeyparakash, 2006). La etapa de huevo, larva, prepupa y pupa se completan en 1.9, 4.0, 0.6 y 4.9 días (Hoy, Nguyen & Jeyparakash, 2006). Los adultos del parasitoide emergen del tórax de las ninfas de *D. citri*, realizan un agujero de salida redondo, visible sin magnificación (Chien, Chu & Ku, 1991, p. 265).

Además de parasitar los estadios desde el tercero hasta el quinto (Anexo Fig. 3), las hembras adultas del parasitoide se alimentan de las ninfas del primer y segundo estadios, este comportamiento se conoce como hostfeeding (Paiva & Parra, 2012, p. 499).

La avispa puede obtener proteína para el desarrollo del huevo alimentándose de la hemolinfa de las ninfas de psílidos, a los cuales accede luego de perforarlas con su ovipositor (Chen & Stansly, 2014, p. 1407). Una sola hembra de *T. radiata* es capaz de matar a más de 500 ninfas por una combinación de alimentación y de parasitismo (Chen & Stansly, 2014, p. 1407). Las hembras también se alimentan de la mielecilla excretada por los psílidos; para ubicar a su hospedante las hembras utilizan señales olfativas (Hoy *et al.* 2006; Mann, Rouseff, Smoot, Castle & Stelinski, 2010, p. 89).

### **2.2.11 INSECTICIDA BIOLÓGICO *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Hypocreales: Clavicipitaceae)**

Los hongos entomopatógenos son un grupo heterogéneo de microorganismos que proveen múltiples servicios a los sistemas agroecológicos, particularmente la capacidad de regular las poblaciones de insectos plaga (Motta & Murcia, 2011, p. 77). Los riesgos para la salud humana y el daño al ambiente asociados a los insecticidas químicos han estimulado esfuerzos para explorar el uso de hongos como insecticidas biológicos (Chen *et al.*, 2014, p.1).

Estos hongos infectan a los artrópodos por contacto, a través de la penetración de la cutícula y ejercen múltiples mecanismos de acción, confiriéndoles una alta capacidad para evitar que el hospedero desarrolle resistencia (Motta & Murcia, 2011, p. 77). La mayoría pertenecen a los órdenes Entomophthorales del phylum Glomeromycota, e Hypocreales del phylum Ascomycota (Augustynuk & Kram, 2012, p. 266-267). Algunos de los principales géneros entomopatógenos son: *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Isaria*, *Trichoderma*, *Nomuraea*, *Entomophthora* y *Neozygites* (Shahid *et al.*, 2012, p. 22). Pueden atacar insectos de diferentes órdenes como: Lepidoptera, Coleoptera, Hemiptera, Diptera, Orthoptera, e Hymenoptera (Augustynuk & Kram, 2012, p. 269).

El hongo *Beauveria bassiana* ha sido utilizado exitosamente para el control biológico de insectos como parte de las estrategias de manejo integrado de plagas (Godoy, Valera, Guédez, Cañizalez y Castillo, 2007, p. 417). Por sus características patogénicas para controlar insectos, su factibilidad para reproducirlo artificialmente y la rentabilidad de uso, este hongo representa una alternativa viable al ser utilizado sin perjuicios al medio ambiente y sin efectos tóxicos (Godoy *et al*, 2007, p. 417).

Su mecanismo de acción se divide en tres fases (Carreño, 2003, p.36): (1) adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto, (2) penetración en el hemocele y (3) desarrollo del hongo, lo cual conduce a la muerte del insecto. Durante la penetración del hongo desde la cutícula del insecto hasta el hemocele, la hifa queda inmersa en proteínas, quitina, lípidos, melanina, difenoles y carbohidratos (Motta & Murcia, 2011, p.79); algunos de ellos pueden inhibir su crecimiento, ya que el insecto activa su sistema inmune a través de procesos como la melanización, fagocitosis, nodulación y encapsulamiento (St. Leger & Roberts, 1997, p. 83-85; Motta & Murcia, 2011, p.79). Sin embargo, los hongos desarrollan una serie de actividades que les permiten evitar este tipo de defensas, tales como cambios en la pared celular y producción de sustancias inmunomodulatorias o toxinas fúngicas (Khachatourians, 1991, 2011, p. 333-336).

Luego de la penetración cuticular inicia el crecimiento miceliar a través de cuerpos hifales que invaden diversas estructuras como tejidos musculares, cuerpos grasos, tubos de Malpighi, mitocondrias, hemocitos, retículo endoplásmico y membrana nuclear (Pucheta *et al.*, 2006, p. 856). Finalmente, las hifas penetran la cutícula desde el interior del insecto y emergen a la superficie iniciando la formación de esporas cuando presenta las condiciones adecuadas como es la humedad relativa y temperatura (Gillespie & Claydong, 1989, p. 207).

La infección por *B. bassiana* causa síntomas importantes antes de matar a su hospedero, tales como pérdida de sensibilidad, falta de coordinación, letargo, inapetencia, melanización y parálisis (Malpartida, Narrea & Dale, 2013, p. 76). Con la muerte del insecto, el beneficio se incrementa pues la esporulación y posterior dispersión del hongo, permite un control más allá de la aplicación (Malpartida *et al.*, 2013, p. 76).

#### **2.2.12 INSECTICIDA BIOLÓGICO *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin**

Es un hongo anamorfo perteneciente al phylum Ascomycota (Tiago, de Oliveira, Alves, 2014, p.645). Este organismo entomopatógeno posee un amplio potencial como insecticida biológico, por lo que su aplicación en la agricultura resulta muy relevante (Zimmerman, 1993, p. 378). Tiene la capacidad de penetrar la cutícula de los insectos, secretando enzimas hidrolíticas, lo cual les ocasiona la muerte (Murad *et al.* 2006, p.365-366). Es utilizado en países como Guatemala, Costa Rica, Brasil y Venezuela en aplicaciones periódicas para reducir las poblaciones de insectos del orden Hemiptera (Cercopidae) (Obando, Bustillo, Castro & Mesa, 2013, p.27).

Posee una amplia distribución en los suelos a nivel mundial. Ha sido aislado a partir de más de 200 especies de insectos (Zimmerman, 1993, p. 375- 376). Meyling & Eilenberg (2007) determinaron que esta especie es más común en suelos expuestos regularmente perturbados (Meyling & Eilenberg, 2007, p. 146). Al aislarlo, desarrolla conidias cilíndricas de color verde, aglomeradas en densas cadenas (Zimmerman, 1993, p. 374). Estas son capaces de persistir en sustratos orgánicos en la rizósfera del suelo (Dix & Webster, 1995).

#### **2.2.13 INSECTICIDA BIOLÓGICO *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson (Eurotiales: Trichocomaceae)**

Es un hongo entomopatógeno perteneciente a la clase Eurotiomycetes. Es utilizado para controlar nematodos parásitos en múltiples especies de cultivos (BPDB,

2008; Romero, 2004). Debido a su amplia distribución es muy frecuente en los suelos y en la vegetación en descomposición (Tan, Ogden, Tillman, Demmler & Rinaldi, 1992, p. 2479). Su aplicación en el presente estudio se dirige a estudiar su eficacia para controlar las poblaciones de *Diaphorina citri*.

*Paecilomyces lilacinus* crece rápidamente formando un micelio denso, en sus colonias puede apreciarse una coloración blanca la cual gradualmente se vuelve violeta (BPDB, 2018). Produce conidias elipsoides de color violeta, dispuestas en cadenas de 2.5-3  $\mu\text{m}$  de longitud y 2-2.2  $\mu\text{m}$  de anchura. El viento permite que se dispersen en grandes cantidades de manera efectiva (Terralia, 2018). De acuerdo a la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) no existen efectos adversos al utilizarlo como insecticida biológico realizando aplicaciones dentro de los límites recomendados por el fabricante del producto (EPA, 2005, p. 2). El hongo no posee efectos adversos en los siguientes organismos: himenópteros benéficos, *Daphnia magna*, algas verdes unicelulares (EPA, 2005, p. 2).

#### **2.2.14 INSECTICIDA PIRETROIDE LAMBDA-CIHALOTRINA**

De acuerdo a Syngenta (2013) el insecticida lambda-cihalotrina (KARATE ZEON 050 CS) es un piretroide de amplio espectro, especialmente indicado para el control de larvas y adultos de insectos masticadores y picadores-chupadores en frutales pomáceos, cítricos, frutales de semilla dura, vides, kiwis, nogales, aguacatales, cultivos bajos, hortalizas, tabaco, praderas y forestales.

Posee una alta eficacia en el control de múltiples plagas en una gran variedad de cultivos (Syngenta, 2013). Actúa por contacto e ingestión, con una rápida capacidad de volteo por ingestión y también posee efecto de repelencia y acción antialimentaria (Syngenta, 2013). La formulación ZEON contiene microcápsulas de 2-3 micrones de

diámetro, con paredes de polímeros entrelazados, suspendidas en agua y protegidas por un filtro UV (Syngenta, 2013). La liberación del ingrediente activo desde las microcápsulas se inicia tan pronto se aplica el producto y concluye en 1 a 2 horas (Syngenta, 2013). Este insecticida se caracteriza por su alta liposolubilidad, por lo que es rápidamente absorbido por la capa cerosa de los insectos (Syngenta, 2013). La formulación tiene alta persistencia y buena adherencia al follaje, resistiendo lluvias que ocurran 2 a 3 horas después de aplicado (Syngenta, 2013). Es efectivo incluso en condiciones de alta humedad ambiental y/o sobre el follaje y con temperaturas bajas (Syngenta, 2013). La formulación ZEON es de bajo impacto ambiental, su persistencia en suelo es moderada, con una vida media que varía de 4 a 12 semanas y un valor típico de 30 días para la mayoría de los suelos (Syngenta, 2013).

#### **2.2.15 INSECTICIDA ABAMECTINA**

Insecticida y acaricida de amplio espectro, es utilizado para el tratamiento preventivo y/o curativo para el control de estados adultos e inmaduros de ácaros e insectos de cultivos (Nufarm, 2018). Se considera efectivo para controlar *Polyphagotarsonemus latus*, *Aceria sheldoni*, *Phyllocoptruta oleivora* y *Phyllocnistis citrella* (Nufarm, 2018). Es utilizado en combinación con otros insecticidas para evitar la aparición de problemas por resistencia (Nufarm, 2018). Funciona por contacto o ingestión del producto, luego de la exposición el insecto sufre inmovilización. La mortalidad máxima se alcanza de tres a siete días después de la exposición (Nufarm, 2018).

#### **2.2.16 DETERGENTE KABONIM**

Este detergente es utilizado como insecticida orgánico, ya que es una alternativa a los agroquímicos (Campos, de Oliveira, Pascoli, de Lima, & Fraceto, 2016, p. 2). El producto está compuesto de aceite esencial de Neem al 40% (Bioatlántica, 2009). El aceite es extraído del árbol *Azadirachta indica* Juss. (Sapindales: Meliaceae). Entre sus

componentes se encuentran triterpenos conocidos como limonoides, de los cuales el más importante es la azadiractina (Campos *et. al.*, 2016, p. 2). Este insecticida posee baja toxicidad para humanos y también para los organismos benéficos, por tanto, su uso es prometedor para el control de muchas plagas. Entre los insectos que controla se encuentra: *Diaphorina citri*, entre otras especies. El aceite se considera un insecticida efectivo por contacto e ingestión, ya que inhibe la alimentación, altera la función hormonal en estadios juveniles, altera el desarrollo y la reproducción, además de repeler la ovoposición en brotes (Campos *et. al.*, 2016, p. 2).

### **2.2.17 INSECTICIDA ÁCIDO BÓRICO**

Se ha demostrado en múltiples estudios que en bajas concentraciones el ácido bórico es eficaz para reducir las poblaciones de hormigas (Klotz & Moss, 1996, p. 10; Klotz, Greenberg & Venn, 1998, p. 913; Klotz, Rust, Field, Greenberg, & Kupfer, 2008, p. 583). El ácido bórico fue utilizado para controlar poblaciones de hormigas a inicios del siglo XX (Klotz & Moss, 1996, p.9). Su uso como método de control resulta adecuado ya que esta sustancia es soluble en agua. Por tanto, puede mezclarse con sacarosa para crear cebos que resultan atractivos para hormigas que consumen la mielecilla de hemípteros en los cultivos (Klotz & Moss, 1996, p.11). Esta sustancia posee acción extendida a periodos posteriores al consumo por parte de las hormigas, de manera que es distribuido dentro de la colonia previo a que su toxicidad se manifieste (Klotz & Moss, 1996, p.10).

Varios autores coinciden en que los cebos con azúcar son efectivos para atraer hormigas (Baker, Van Vorhis & Gaston, 1985, p. 1086; Klotz, Rust, Field, Greenberg, & Kupfer, 2008, p.579; Chow, 2008, p. 62) Dado que los azúcares en cebos resultan atractivos para las hormigas, pueden utilizarse en combinación con insecticidas. Se ha

evidenciado como las hormigas argentinas se alimentan más eficientemente de sucrosa en solución líquida. Este comportamiento se debe al hábito de alimentarse de las secreciones azucaradas de Homopteros, así como de los nectarios de plantas (Silverman & Roulston, 2001, p. 514).

### **2.2.18 FUNGICIDA FOSETIL ALUMINIO**

Se utiliza como fungicida y bactericida, es una sustancia perteneciente al grupo de los organofosforados (Bayer, 2016). Es utilizado para el tratamiento de enfermedades producidas por hongos Oomicetes, en particular Mildiú, *Phytophthora* y *Pythium* (Bayer, 2016). De acuerdo al fabricante, estimula los mecanismos de defensa de la planta, minimizando la posibilidad de aparición de cepas resistentes (Bayer, 2016). Su ingrediente activo es tris-O-etilfosfonato de aluminio, el cual penetra el tejido foliar, esto conduce a que se extienda de forma ascendente y descendente. El producto es asperjado mezclado con agua sobre el follaje de la plantación (Bayer, 2016).

### **2.2.19 CONCEPTOS RELEVANTES**

#### **2.2.19.1 ABUNDANCIA POBLACIONAL**

Se refiere al número de individuos de la misma especie en una unidad de área específica (Vargas & Rodríguez, 2012, p. 100). El recuento total de individuos es impracticable por lo que se deben realizar estimaciones basadas en muestreo (Vargas & Rodríguez, 2012, p. 100). Los estudios indican que el incremento de la abundancia poblacional de *D. citri* coincide con la disponibilidad de brotes vegetativos tiernos y temperaturas favorables para el desarrollo de los estadios (Ortega *et al.*, 2013, p. 328; Hall, Wenniger & Hentz, 2011, p. 83).



### **2.2.19.2 FACTORES EXÓGENOS VINCULADOS AL DESARROLLO DE LOS PSÍLIDOS**

El desarrollo y crecimiento de los insectos depende de factores como la disponibilidad de alimento, humedad, temperatura, fotoperiodo y la presencia de otros organismos como depredadores, parasitoides o patógenos (Gullan & Cranston, 2010, p.172). La temperatura y humedad son dependientes de la radiación solar y el viento. Son determinantes para los insectos ya que la radiación causa que aumenten de temperatura, además la convección causa que pierdan calor (Willier, 1981, p.17, 19). Las larvas de insectos son particularmente sensibles debido a su pequeño tamaño y su área de superficie particularmente grande (Willier, 1981, p.17, 19).

### **2.2.19.3 TEMPERATURA**

Los insectos son poiquilotérmicos, por lo que su desarrollo es dependiente de la temperatura ambiental (Gullan & Cranston, 2010, p. 172). Generalmente los incrementos de temperatura dentro de un rango favorable, aceleran el metabolismo de los insectos e incrementan su tasa de desarrollo (Gullan & Cranston, 2010, p.172). En los psílicos este factor incide en el tiempo de desarrollo de los estadios juveniles, longevidad de los adultos y la producción de huevos en la hembra (Vargas & Rodríguez, 2012 p. 100).

Nava *et al.* (2007) reportan evidencia de variación en el tiempo de desarrollo de *D. citri* debido al efecto de tratamientos de temperatura dentro del rango de 18 a 32°C. “El tiempo de desarrollo embrionario varía de 7.7 días a 18°C, a 2.6 días a 32°C. Para los estadios ninfales reportan un periodo de 35.8 días a 18°C, de 12.6 días a 25°C y de 9.4 días a 32°C”. Los autores determinaron que las temperaturas superiores a 32°C son desfavorables para *D. citri*, ya que la viabilidad durante el periodo de huevo a adulto se

reduce a 5%. La duración del ciclo biológico también sufre variación, se obtuvo una duración de 30 días a 20°C, 17.1 días a 25°C y 12 días a 32°C (Nava *et al.*, 2007, p. 713).

#### **2.2.19.4 HUMEDAD RELATIVA**

La humedad relativa tiene un efecto directo en el desarrollo de los insectos (Gullan & Cranston, 2010, p.172; Vargas & Rodríguez, 2012 p.101). Un bajo nivel de humedad en el aire puede afectar la fisiología y el desarrollo de los huevos, estadios juveniles, tasa de oviposición y longevidad de los adultos (Gullan & Cranston, 2010, p.172; Vargas & Rodríguez, 2012 p.101). La alta relación área/volumen de los insectos ocasiona que sean susceptibles a la deshidratación (Gullan & Cranston, 2010, p.172). La tasa de oviposición de *Diaphorina citri* se reduce cuando la humedad relativa (HR) es inferior a 40% (Skelley & Hoy, 2004). De acuerdo a McFarland & Hoy (2001, p.231), los psíidos adultos no son tan dependientes de alto nivel de HR para sobrevivir, a diferencia de sus parasitoides *T. radiata* y *D. aligarhensis*. Sin embargo, McFarland & Hoy (2001, p.231) indican que *D. citri* tiene una habilidad superior para sobrevivir a 97% HR a diferencia de sus parasitoides y esto puede significar que está fisiológicamente mejor adaptado a niveles altos de HR.

#### **2.2.19.5 FOTOPERÍODO**

Su efecto consiste en incrementar la fecundidad de la hembra al haber una mayor duración de la fase diurna/luminosa (Vargas & Rodríguez, 2012, p. 101). La intensidad luminosa y la longitud de onda son importantes factores reguladores de la fecundidad (Vargas & Rodríguez, 2012, p. 101). Serikawa (2011, p. 40) indica que el fotoperiodo tiene un efecto en el comportamiento de alimentación de *Diaphorina citri*: “aparentemente durante las horas de oscuridad la concentración de azúcares en el floema de cítricos es superior, por lo que una mayor cantidad de psíidos realizan actividades relacionadas a la ingesta del floema durante el periodo de oscuridad”.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es responsable de la transmisión de las bacterias *Ca. Liberibacter* spp., agentes causales de la enfermedad del reverdecimiento de los cítricos o “Huanglongbing” (Bové, 2006, p. 7; Pluke *et al.*, 2008, p.37). Esta enfermedad es considerada una seria amenaza para la citricultura a nivel mundial dada su creciente expansión (Ortega *et al.*, 2013, p. 318). Por lo cual *D. citri* es considerado una de las plagas más importantes de los cítricos (Hall, 2010, p. 1; Hall *et al.*, 2012, p. 207).

Ante este panorama se requiere la aplicación de medidas fitosanitarias inmediatas para el control del Huanglongbing y monitorización de su vector *Diaphorina citri* (Gómez *et al.*, 2014, p. 36). Las estrategias de monitorización deben desarrollarse de manera localizada en el área geográfica, tal como el caso de los cítricos del oriente de Guatemala. Esto permitirá estudiar las fluctuaciones de las poblaciones del vector en relación a la fenología reproductiva y vegetativa de los cítricos hospederos bajo las condiciones agroecológicas de la región (Gómez *et al.*, 2014, p. 36).

La detección y ejecución de procedimientos de monitorización eficientes de *D. citri* son fundamentales para identificar las áreas que invade el psílido y desarrollar programas de manejo para su control. El estudio de la abundancia poblacional de *D. citri* es un componente del programa de manejo integrado del psílido, en concordancia con el proyecto de “Fortalecimiento de la región del OIRSA en el control del Huanglongbing (HLB) y la Implementación del Manejo Integrado de Plagas en Cítricos” (OIRSA, 2014). Esto contribuirá a la protección de las 8,500 hectáreas de cultivos de cítricos establecidas en el territorio nacional (Pérez, A., comunicación personal, 2016).

Adicionalmente, se ha promovido el uso en la región del parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston como un eficaz controlador biológico del psílido asiático. De acuerdo a

estudios en Latinoamérica parasita eficientemente el segundo, tercero y cuarto estadio ninfal, con porcentajes de parasitismo entre 30% y 90% (González, Hernández, Cabrera & Tapia, 2012, p.1). Sin embargo en Guatemala no se han determinado los porcentajes de parasitismo que alcanza en el campo. Por lo que este estudio es pionero al cuantificar la eficacia del parasitoide *T. radiata* para el control biológico de *Diaphorina citri*.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 GENERAL

- Determinar la abundancia poblacional de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) en cultivos de limón persa bajo manejo integrado de plagas.

### 4.2 ESPECÍFICOS

- Determinar diferencias en la abundancia poblacional de *D. citri* (Hemiptera: Liviidae), al comparar una parcela con manejo integrado de plagas y una parcela sin manejo.
- Determinar el efecto del parasitismo de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) en la población de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) bajo condiciones de manejo integrado de plagas.

## 5. HIPÓTESIS

Las diferencias en la abundancia poblacional de *Diaphorina citri* entre la parcela control y la parcela con manejo integrado de plagas no se deben al azar.

## **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 UNIVERSO DE ESTUDIO**

Poblaciones del psílido *D. citri* en el municipio de Jalpatagua, Jutiapa.

### **6.2 MUESTRA**

La muestra consiste en 80 brotes vegetativos de limón persa en cada una de las dos parcelas de monitorización del psílido.

### **6.3 VARIABLES DE ESTUDIO**

#### **6.3.1 VARIABLES INDEPENDIENTES**

Temperatura (°C), porcentaje de humedad relativa, precipitación (mm).

#### **6.3.2 VARIABLE DEPENDIENTE**

Abundancia poblacional de *D. citri*.

### **6.4 MATERIALES**

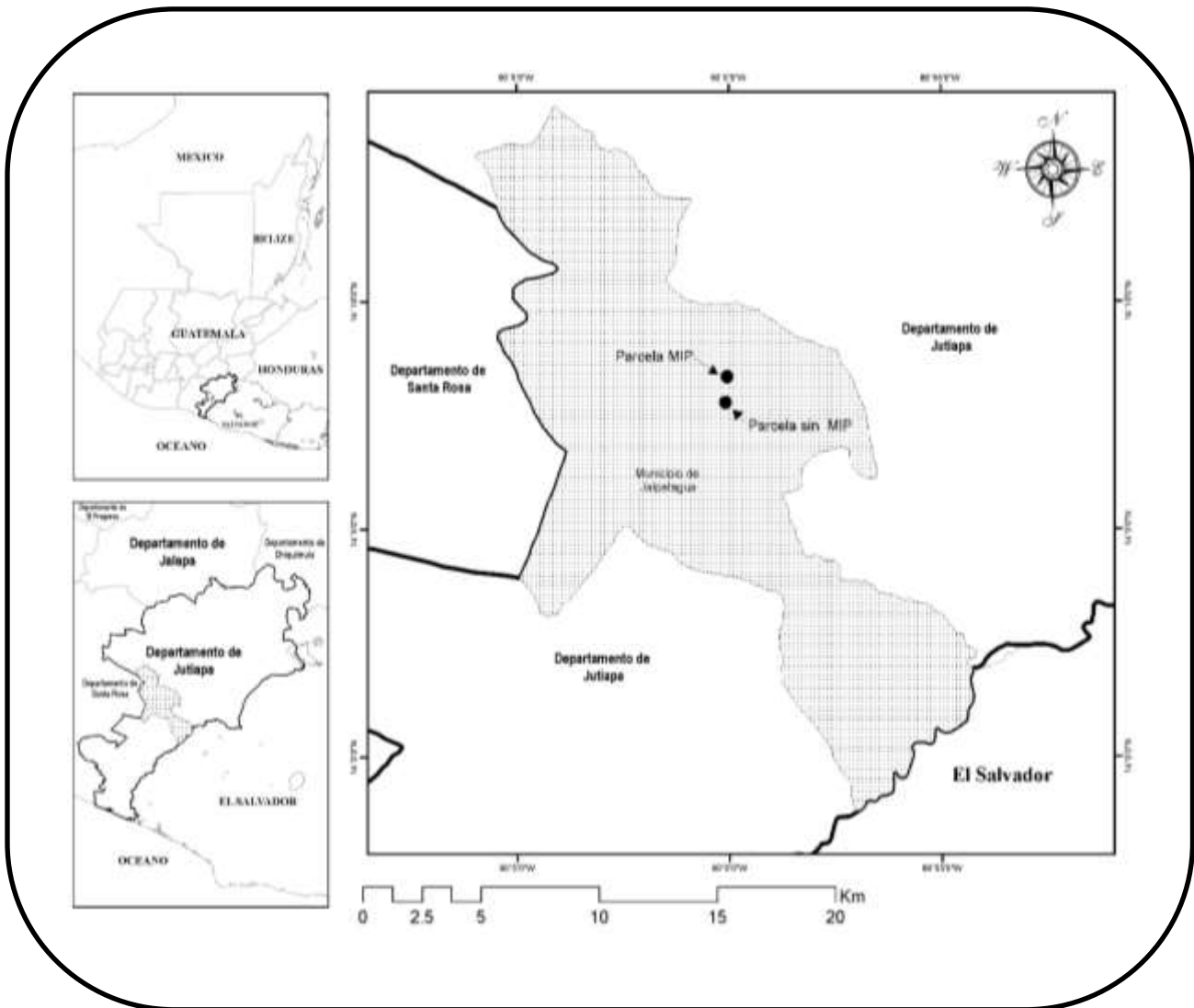
- EL-USB-2-LCD Data Logger Lascar Electronics
- Contador manual
- Recipientes entomológicos
- Pinzas entomológicas
- Lupa entomológica 20x
- Bolsas plásticas
- Regla de 30 cm
- Tijeras de poda
- Cintas de nylon
- Azul de lactofenol
- Microscopio óptico
- Estereoscopio Zeiss Stemi DV4
- Computadora portátil
- Paquete estadístico R v. 3.4.0 (R Core Team, 2017)
- SPSS Statistics v. 25 (IBM, 2017).

## 6.5 ÁREA DE ESTUDIO

El estudio se realizó durante los años 2015-2016 en dos parcelas establecidas para la vigilancia fitosanitaria de cítricos. Estas se ubican en el municipio de Jalpatagua, departamento de Jutiapa (Fig. 1). La investigación fue promovida por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación –MAGA- y el Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria –OIRSA- con el propósito de fortalecer el control del principal vector del HLB, *Diaphorina citri*. El laboratorio de producción de artrópodos MIC S.A. produce el parasitoide *T. radiata* para la región de Centroamérica como una herramienta para el control biológico del vector del HLB.

Las parcelas presentan condiciones de manejo opuestas (Anexo 4 y 5). La parcela con manejo integrado de plagas (N 14.138991° O -90.000684°), presenta 300 árboles injertados en un patrón de *Citrus aurantifolia* var. *tahiti* de 5 años de edad (Anexo 4). En esta se implementó un manejo integrado combinando agroquímicos, insectos parasitoides y hongos entomopatógenos nativos (Cuadro 1 y 2). Se instaló un data logger (EL-USB-2-LCD Data Logger Lascar Electronics®) para medir la temperatura y humedad relativa en un área segura a 150 metros de la parcela. Los datos se registraron continuamente desde el 2015 a intervalos de 1 hora. Además, se cuenta con un pluviómetro instalado en la parcela para medir la precipitación diariamente.

En la parcela sin manejo integrado (N 14.129671° O -90.001261°) se implementó un manejo tradicional libre de insecticidas (Cuadro 1). Presenta 250 árboles de 7 años de edad injertados en un patrón de *Citrus aurantifolia* var. *tahiti* (Anexo 5). Ambas parcelas poseen un distanciamiento de siembra de 4 x 5 m y una extensión de 1 hectárea. Sin embargo, las parcelas de estudio carecen de réplicas, por lo cual esta investigación se plantea como un estudio de caso.



**Figura 1. Área de estudio.** Localización de las parcelas para la monitorización de *D. citri* en Jalpatagua, Jutiapa, Guatemala.

**Cuadro 1.** Historial de manejo de parcelas para la vigilancia y monitorización del psílido asiático de los cítricos en Jalpatagua, Jutiapa.

AÑO	2015					2016				
	MES 1 SEMANA 2	MES 2 SEMANA 1	MES 3 SEMANA 2	MES 4 SEMANA 1	MES 4 SEMANA 4	MES 5 SEMANA 2	MES 6 SEMANA 2	MES 7 SEMANA 4	MES 9 SEMANA 29	MES 11 SEMANA 38
<b>PARCELA CON MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS</b>	Insecticida Lambda- cihalotrina 0.5mL/L	Detergente 2.5mL/L Agua	Acaricida Abamectina 1L/H	Fungicida Mancozeb 2g/L	<i>Beauveria bassiana</i> + Aceite mineral 10 mL/H	Insecticida Lambda- cihalotrina 200 ml/H		<i>B. bassiana</i> + Aceite mineral 10 mL/H	<i>Paecilomyces lilacinus</i> + <i>Metarrhizium anisopliae</i> + Aceite mineral 10 mL/H	<i>Paecilomyces lilacinus</i> + Aceite mineral 10 mL/H
<b>PARCELA SIN MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS</b>	Insecticida Lambda- cihalotrina 0.5mL/L Volumen 322 L/H*									

Periodo desprovisto de aplicación de agroquímicos.

\*\*H = Hectárea; \*Volumen de aplicación de agua = 322 L/H.



**Cuadro 2.** Historial de liberaciones de *Tamarix radiata* en las parcelas para la vigilancia y monitorización del psílido asiático de los cítricos en Jalpatagua, Jutiapa.

	2015					2016
	MES 1 SEMANA 1 Y 3	MES 2 SEMANA 2	MES 3 SEMANA 1 Y 2	MES 4 SEMANA 2, 3 Y 4	MES 5 SEMANA 2 Y 4	MES 10 SEMANA 33
<b>PARCELA CON MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS</b>	Parasitoide <i>Tamarixia radiata</i> .					
<b>PARCELA SIN MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS</b>	Periodo desprovisto de liberación de <i>Tamarixia radiata</i> .					

El sitio de estudio se ubica en el municipio de Jalpatagua, Jutiapa a una altitud de 580 msnm. El clima de la región es cálido-húmedo, con una temperatura mínima de 22.5°C y máxima de 40.5°C (INSIVUMEH, 2010). La temperatura promedio es de 27.4 °C, precipitación anual promedio de 1169.4 mm y humedad relativa de 68% (INSIVUMEH, 2010). Las condiciones de manejo agrícola y cultural de los árboles de la parcela se establecieron durante el estudio.

Las plantaciones fueron sometidas a poda para remover ramas improductivas, enfermas, débiles o envejecidas. Esto permite reducir la altura de los árboles y su espesor, así como despejar la entrada de luz solar y aire al follaje (Hardy, 2004, p. 2).

## **6.6 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **6.6.1 MONITORIZACIÓN DE PSÍLIDOS ADULTOS CON TRAMPAS CROMÁTICAS**

#### **6.6.1.1 MONITORIZACIÓN MEDIANTE TRAMPAS PERIFÉRICAS**

Se ubicaron 10 trampas cromáticas amarillas Feromis® (11.5 x 24.5 cm) para determinar la abundancia de las poblaciones de adultos en las plantaciones. Estas se colocaron en postes a 1.5 m sobre el suelo en la periferia de la parcela (Anexo 6). Los recuentos se realizaron semanalmente.

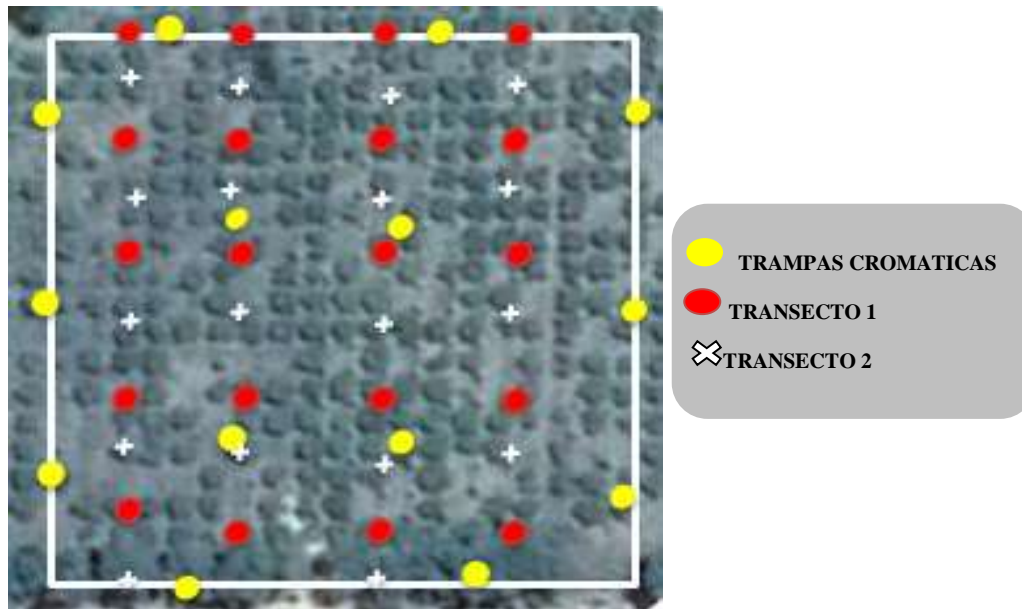
#### **6.6.1.2 MONITORIZACIÓN MEDIANTE TRAMPAS ASOCIADAS A ARBOLES**

Ambas parcelas fueron divididas en 4 cuadrantes, en el centro de cada uno de ellos se colocó una trampa asociada a un árbol a 1.6 m de altura (Anexo 6). La abundancia de adultos en las trampas de captura se registró semanalmente, para establecer patrones de crecimiento en las poblaciones. Se realizaron recambios de todas las trampas quincenalmente.

### 6.6.2 MONITORIZACIÓN DE BROTES INFESTADOS POR *Diaphorina citri*

Para determinar la abundancia poblacional de *D. citri* se establecieron 4 transectos de 10 árboles en sentido norte-sur en cada parcela (Fig. 2). El procedimiento de monitorización se realizó alternando los transectos semanalmente. Se inspeccionó un brote por árbol en 20 árboles en los transectos No. 1 (círculos) para determinar el número de huevos, ninfas y adultos de *D. citri* usando una lupa de aumento 20X (Anexo 7). Los brotes son grupos de hojas muy jóvenes en las yemas terminales, de color verde pálido que son aptos para la oviposición de huevos del psílido y subsecuente desarrollo. El muestreo se dirigió a los brotes adecuados para la oviposición y desarrollo de *D. citri* (Barrera *et al.*, 2012, p.75; Pluke *et al.*, 2008, p.37). En la siguiente semana se inspeccionaron brotes en 20 árboles de los transectos No. 2 (cruces). De esta manera se inspeccionaron 20 árboles en la primera semana y 20 árboles distintos en la siguiente.

En cada brote inspeccionado se determinó el número de huevos, ninfas y adultos del psílido presentes con una lupa de aumento 20X. Se efectuaron liberaciones de *T. radiata* alrededor de brotes infestados (Anexo 8 y Cuadro 2). En muestreos posteriores se brindó seguimiento revisándolos para registrar la tasa de parasitismo (Rakhshani & Saeedifar, 2013, p. 17).



**Figura 2.** Esquema de monitorización de brotes en cuatro transectos establecidos en la parcela MIP y en la parcela sin MIP.

### 6.6.3 PARASITISMO DE *Tamarixia radiata*

Los eventos de liberación del parasitoide se realizaron al detectar la presencia de estadios ninfales del psílido en brotes vegetativos ( $n > 10$ ). (Anexo 8). Durante cada muestreo en la parcela con manejo integrado de plagas se revisaron ninfas de *D. citri* en el 3°, 4° y 5° estadio. En estas se revisó la sección ventral de las ninfas para registrar el número de insectos parasitados por *T. radiata*. Se determinaron los porcentajes de parasitismo a partir de la relación entre el número de ninfas parasitadas y el número total de ninfas parasitadas y no parasitadas del 3°, 4° y 5° estadio (Pluke *et al.*, 2008, p.38).

### 6.6.4 AISLAMIENTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS

Para determinar el efecto de los hongos entomopatógenos en la población de psílicos se realizó búsqueda de cadáveres infectados en la parcela MIP. A su vez, se realizaron colectas de psílicos con el propósito de aislar los hongos aplicados previamente. Los psílicos se colectaron en los brotes y ramas de *Citrus aurantifolia* var. *tahiti*. Los cadáveres de los insectos se lavaron con solución de NaOCl 1%. Luego se

incubaron en cajas de Petri con agar papadextrosa en condiciones de oscuridad, a una temperatura ambiente de 23°C y humedad relativa de 80%. Las colonias de hongos filamentosos que emergían de los insectos fueron seleccionadas para efectuar réplicas de la cepa cada 7 días. Este proceso se repitió hasta aislar una cepa en el medio de cultivo.

Los cultivos purificados de los hongos aislados fueron examinados microscópicamente para identificar la especie de acuerdo a caracteres morfológicos y características del cultivo. Mediante la técnica de impronta se transfirieron porciones del micelio hacia portaobjetos limpios. Los montajes fueron teñidos con solución de azul de lactofenol para incrementar el contraste. Las preparaciones fueron examinadas microscópicamente con una magnificación de 400x y 1000x.

## **6.7 TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE DATOS**

### **6.7.1 COMPARACIÓN DE POBLACIONES DE *Diaphorina citri***

#### **6.7.1.1 ANÁLISIS DE SERIES DE TIEMPO**

Se utilizó el programa R versión 3.4.0 –paquete Stats- para elaborar series de tiempo, las cuales describen el comportamiento de las poblaciones de *D. citri*. Esto permite establecer diferencias en la abundancia poblacional debido al manejo de las parcelas, determinar patrones de crecimiento en las poblaciones y determinar el efecto de la estacionalidad (Hernández *et al.*, 2009, p. 23). El análisis de series de tiempo es adecuado para el presente estudio, dado que el mismo carece de réplicas.

Se efectuaron autocorrelaciones para determinar si la abundancia de *D. citri* y la densidad de *T. radiata* se ajustan al azar. Los registros de todos los estadios se analizaron mediante el software IBM SPSS Statistics v. 25 (IBM Corp 2017). Su propósito es determinar si las series de tiempo son dependientes de eventos pasados. Esta prueba

establece si existe una relación lineal entre un valor en el tiempo  $x_t$  y un valor previo  $x_{t-1}$ . Para realizar el análisis se estableció un valor de rezago de 39.

#### **6.7.1.2 ANÁLISIS DE CORRELACION DE VARIABLES AMBIENTALES**

Se efectuaron correlaciones de Spearman en el programa R –paquete Vegan-. Mediante estas se estableció las relaciones de causa y efecto entre la abundancia poblacional de estadios de *D. citri* y las variables independientes. Esto permitió comparar la dinámica poblacional en la parcela con manejo integrado de plagas y la parcela sin manejo integrado.

#### **6.7.2 ANÁLISIS DE VARIABLES CLIMÁTICAS**

Se efectuaron climadiagramas para analizar la relación entre la fluctuación de las poblaciones de *D. citri* con las mediciones locales de temperatura, precipitación y humedad relativa. Estos se generaron con el programa R versión 3.4.0 (R Development Core Team, 2017) –paquete ClimatoI- analizando datos obtenidos en el campo y del INSIVUMEH. Esto permite identificar patrones en la fluctuación poblacional relacionados a estacionalidad. Los patrones observados proporcionan evidencia para establecer implicaciones ecológicas para el manejo de *D. citri*. A su vez, se efectuaron gráficos de barras para representar la abundancia de psíidos y compararla con las variables climáticas (temperatura y humedad relativa).

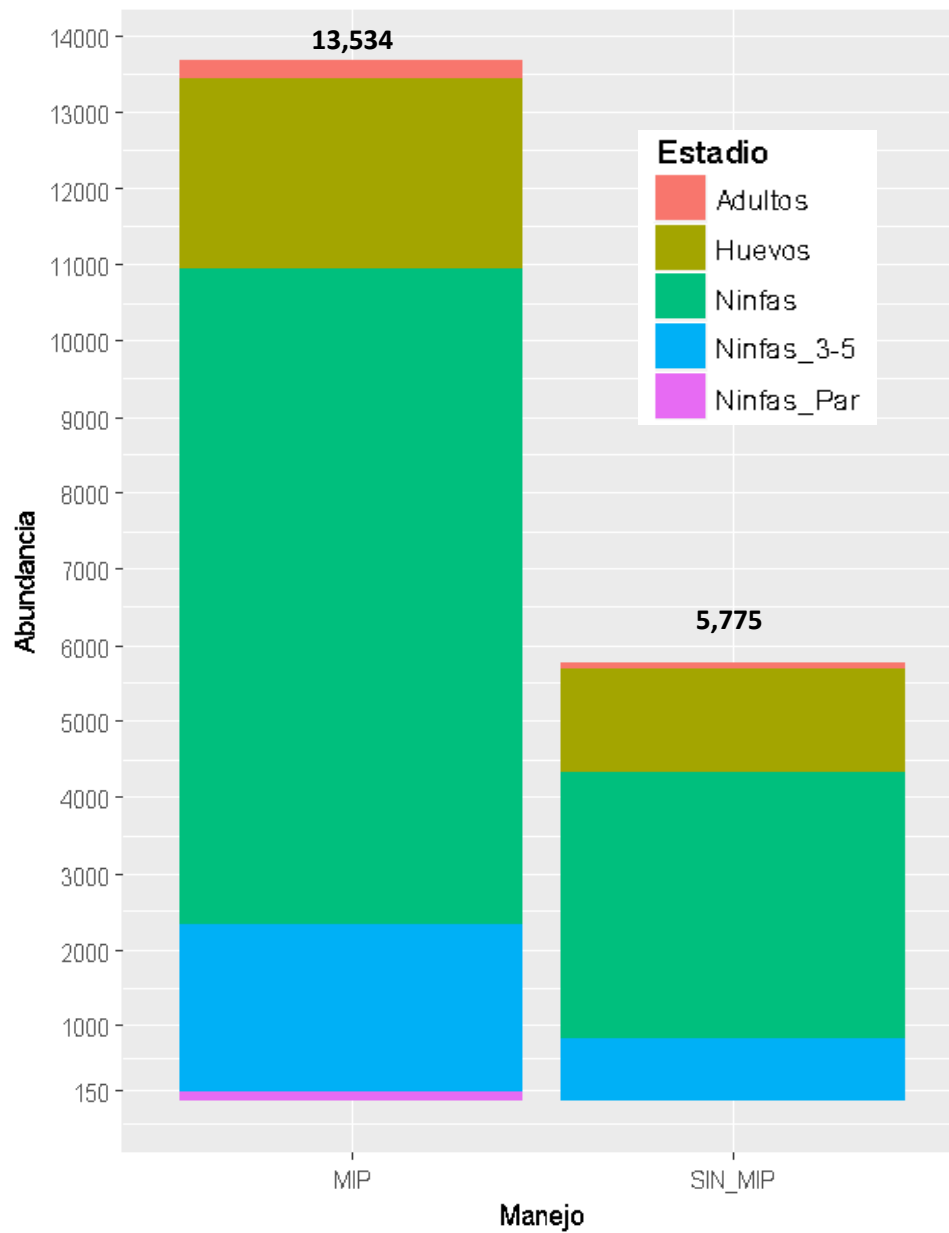
## 7. RESULTADOS

### 7.1 Abundancia de ninfas en parcelas de monitorización del psílido *D. citri*

Durante los años 2015 y 2016 se efectuaron 39 muestreos en las parcelas de estudio, distribuidos de la siguiente manera: muestreos No.1 al 8 corresponden a los meses de agosto y septiembre de 2015. Muestreos No. 9 al 39 corresponden a los meses de enero a agosto de 2016.

En la parcela con manejo integrado de plagas se contabilizaron 2506 huevos, 8616 ninfas, 229 adultos y 2183 ninfas del 3º al 5º estadio del psílido. En promedio se hallaron 215 ninfas por muestreo. Se observaron 134 ninfas parasitadas por *T. radiata*.

En la parcela sin manejo integrado de plagas se contabilizan 1382 huevos, 3481 ninfas, 79 adultos y 833 ninfas del 3º al 5º estadio del psílido asiático de los cítricos. En promedio se hallaron 89 ninfas por muestreo. Al comparar la abundancia poblacional, la gráfica de la figura 3 muestra claramente que la parcela con MIP presentó mayor abundancia de *D. citri*. Esto es un resultado inesperado debido a las múltiples aplicaciones de insecticidas biológicos dirigidas a reducir la población de *D. citri*.



**Figura 3. Abundancia acumulada de psílidos durante los muestreos 2015-2016 en la parcela con manejo integrado de plagas (MIP) y parcela sin manejo integrado (SIN MIP).** (Ninfas 3\_5= Ninfas de los estadios 3 al 5; Ninfas\_Par= Ninfas parasitadas por *T. radiata*.)

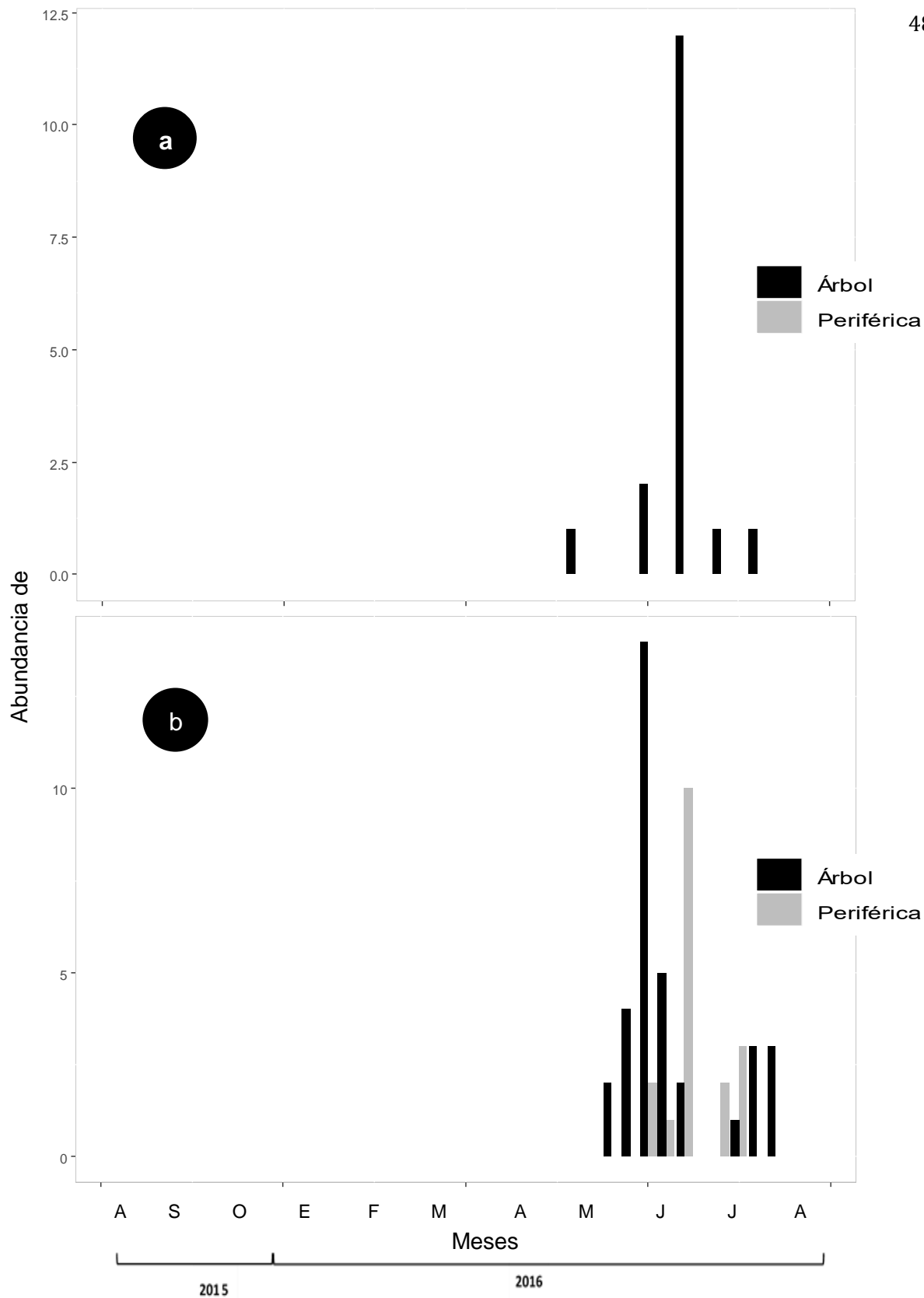


## 7.2 Monitorización de psílicos adultos por trampas cromáticas

La Figura 4 presenta la captura de psílicos adultos con trampas cromáticas, comparando las parcelas de estudio. Se indican las capturas mediante trampas asociadas a árboles (Árbol) y trampas ubicadas en el perímetro de la parcela (Periféricas). Durante un extenso periodo entre agosto 2015 hasta mayo 2016 no se capturaron psílicos adultos. Este patrón se modificó durante mayo, junio y julio, ya que hubo crecimiento de las poblaciones de adultos.

En la parcela con manejo integrado de plagas (Fig. 4a) el crecimiento poblacional se detecta en trampas asociadas a árboles a finales de mayo ( $n=4$ ). El máximo número de psílicos capturados fue de 14 individuos el 9 de junio. El total de adultos capturados durante el estudio fue de 48 individuos. El resultado es inesperado, dado que la abundancia de psílicos en esta parcela supera lo registrado en la parcela sin manejo.

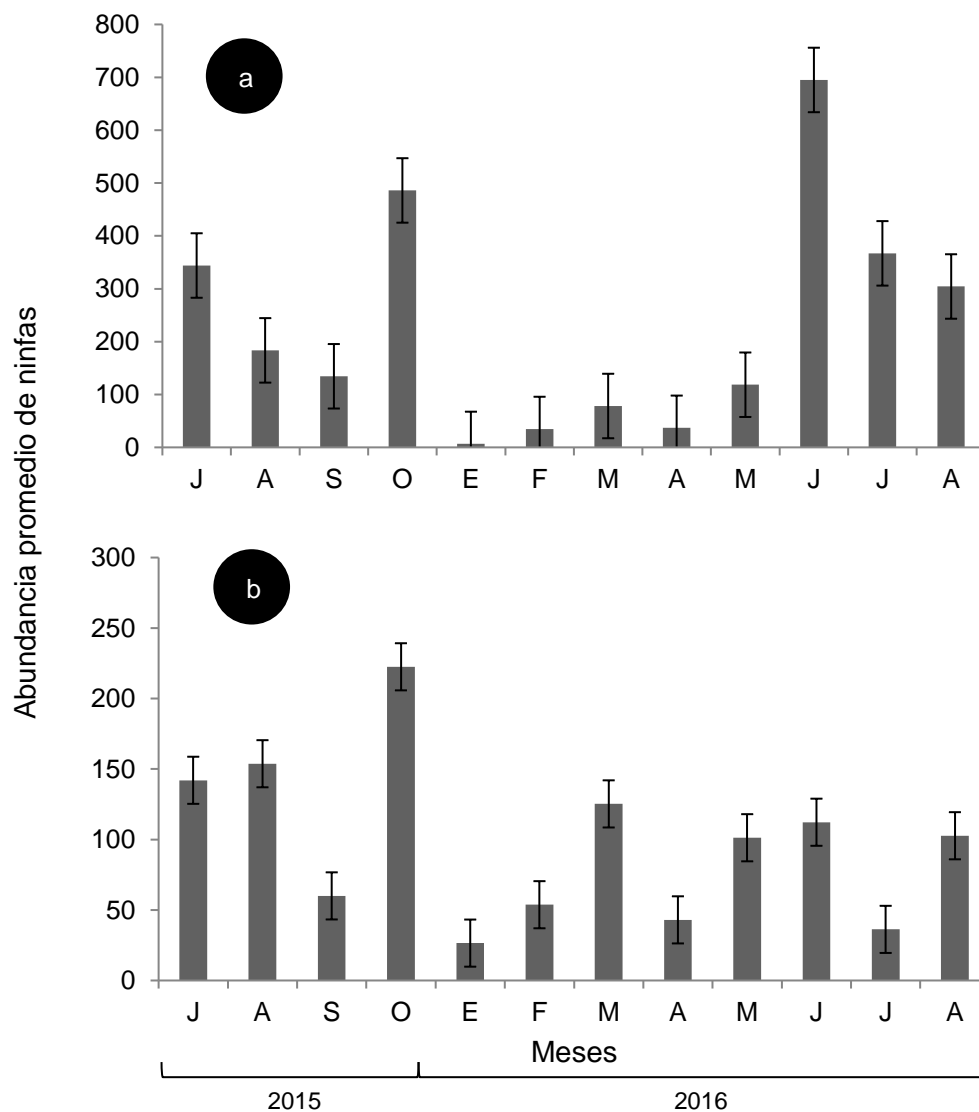
En la parcela sin manejo integrado de plagas (Fig. 4b) el crecimiento poblacional se detecta en trampas periféricas el 14 de mayo ( $n=1$ ) y 9 de junio ( $n=2$ ). En esta parcela la abundancia de adultos fue inferior a la observada en la parcela con manejo integrado. Se obtuvo un total de 18 adultos capturados durante el estudio. Este valor representa un 38% del total estimado.



**Figura 4. Abundancia de psílidos adultos capturados por trampas cromáticas.**  
 a.) Parcela con manejo integrado de plagas. b.) Parcela sin manejo integrado de plagas.

### 7.3 Abundancia mensual de ninfas de *D. citri*

La Figura 5 presenta la abundancia promedio mensual de ninfas de *D. citri*. Los meses con mayor abundancia promedio de ninfas en la parcela MIP fueron: octubre 2015 (n=486), junio 2016 (n=625), julio 2016 (n=367) y agosto 2016 (n=304) (Desviación estándar= 211.3) (Fig. 5a). En la parcela sin MIP se registró una dinámica poblacional diferente. Los meses con mayor abundancia de ninfas fueron agosto 2015 (n=615), octubre 2015 (n=445), marzo 2016 (n=501), junio 2016 (n=449) y mayo 2016 (n=405) (Desviación estándar = 58) (Fig. 5b)



**Figura 5. Abundancia promedio mensual de ninfas durante 2015-2016.** a.) Parcela con manejo integrado de plagas. b.) Parcela sin manejo integrado de plagas.

#### 7.4 Abundancia de ninfas en parcela con manejo integrado de plagas

La serie de tiempo de la Figura 6 compara la abundancia de ninfas de *D. citri* y las aplicaciones efectuadas en la parcela con manejo integrado de plagas durante los años 2015 y 2016. El recuadro rojo indica la aplicación del insecticida piretroide lambda-cihalotrina. Los recuadros morados representan los productos orgánicos aplicados. Los recuadros amarillos indican las aplicaciones de hongos entomopatógenos: *B. bassiana*, *M. anisopliae* y *P. lilacinus*. Se indica en recuadro azul la liberación del parasitoide *T. radiata*. Los patrones de crecimiento de ninfas de *D. citri* corresponden al periodo de precipitación durante junio hasta agosto.

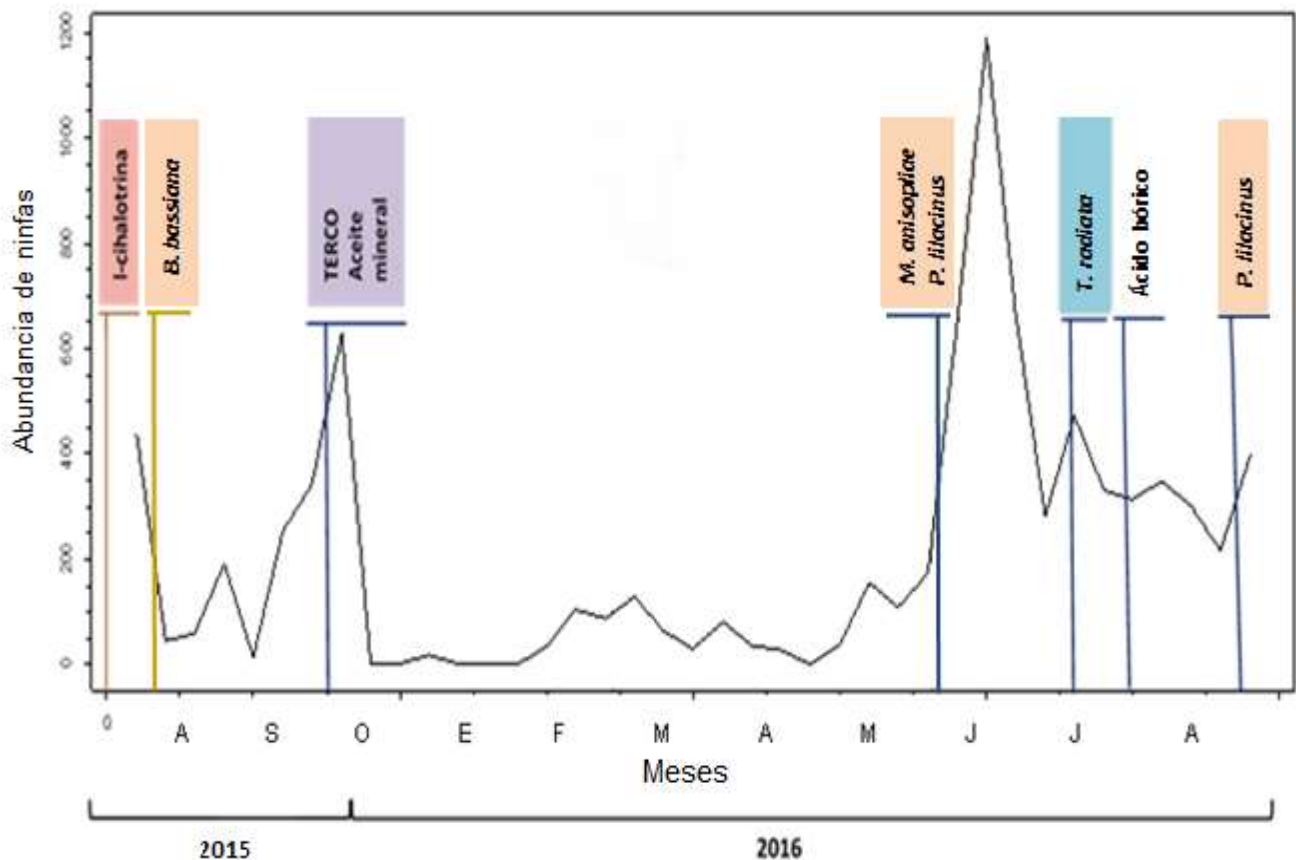


Figura 6. Manejo integrado de la parcela MIP durante 2015-2016.

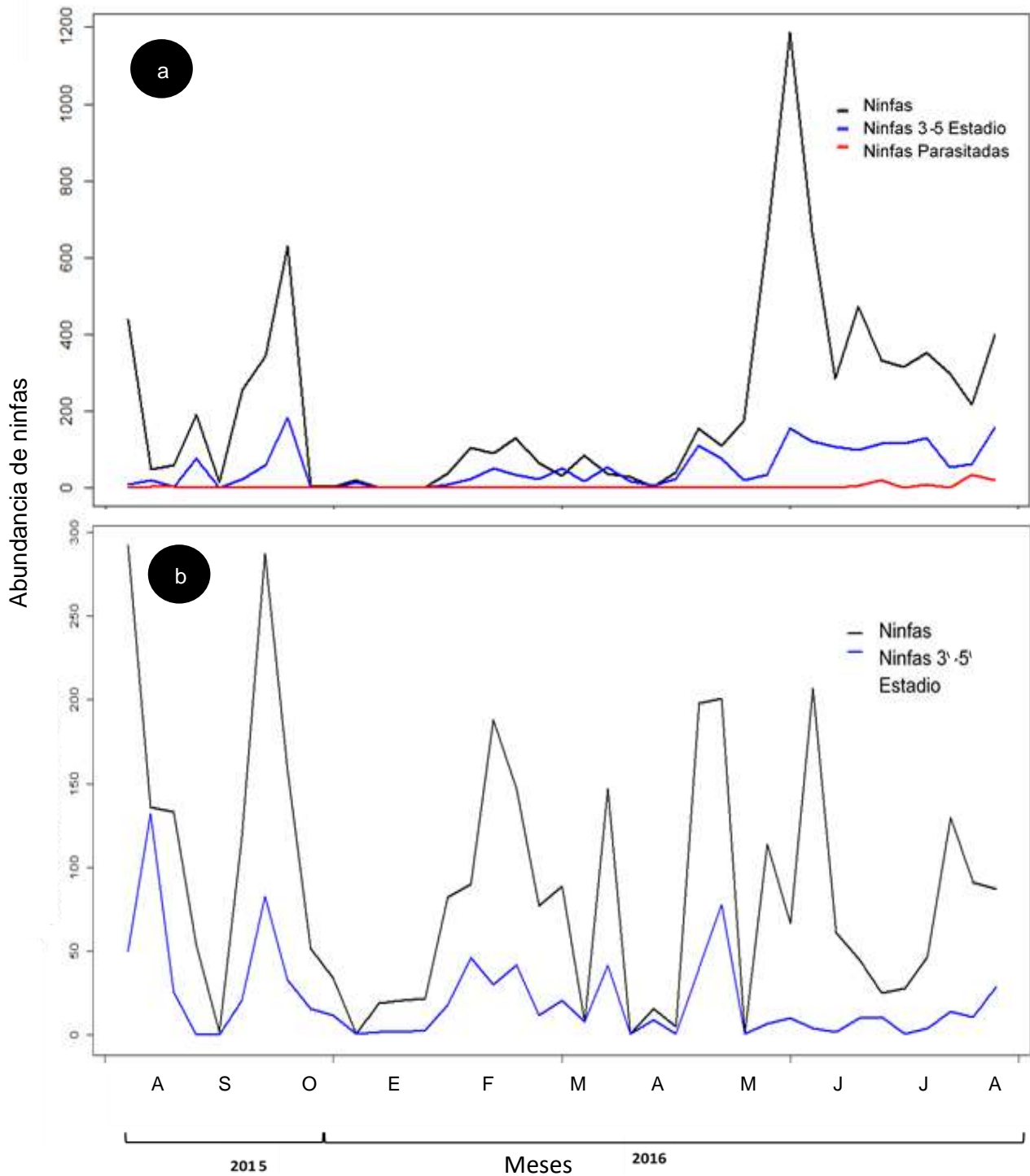
## 7.5 Abundancia de ninfas en brotes vegetativos

En la Figura 7a. se indican los eventos de crecimiento poblacional de la parcela MIP. La abundancia promedio fue de 287 ninfas. Los incrementos durante 2015 ocurren el 8 de agosto (n=437), 2 de octubre (n=343) y 8 de octubre (n=629).

Durante el 2016 la abundancia promedio fue de 205 ninfas. Los eventos de crecimiento se observaron el 17 de marzo (n=130), el 14 de mayo (n=155), el 9 de julio (n=473) y el 19 de agosto (n=398). El máximo crecimiento observado ocurrió el 16 de junio (n=1187). Se determinó mediante autocorrelación que la fluctuación observada en la serie de abundancia de psíidos no se debe al azar. Los coeficientes de autocorrelación de las series se presentan en los Anexos 10 y 11. Los gráficos de autocorrelación se ubican en los anexos 15 y 16.

Las ninfas parasitadas se indican en la tercera serie de la Figura 7a. Los casos de parasitismo se observaron durante los muestreos realizados el 16 de julio (n= 19), el 29 de julio (n=9), el 12 de agosto (n=34) y el 19 de agosto (n=18) de 2016. El análisis de autocorrelación de las series de parasitismo se presenta en los Anexos 13 y 18.

Los eventos de crecimiento poblacional de la parcela sin MIP se presentan en la Figura 7b. Los incrementos durante 2015 ocurren de la siguiente manera: el máximo crecimiento se observó el 8 de agosto (n=292) y el 8 de octubre (n=158). La abundancia promedio fue de 145 ninfas. Durante 2016, los eventos de crecimiento fueron los siguientes: 10 de marzo (n=188), 14 de mayo (n=198), 21 de mayo (n=201), 23 de junio (n=207) y 6 de agosto (n=130). La abundancia promedio fue de 75 ninfas. El análisis de autocorrelación de las series y sus respectivos gráficos se presentan en los Anexos 20, 21, 24 y 25. En esta parcela se determinó que la fluctuación de la abundancia de psíidos no se debe al azar.



**Figura 7. Serie de tiempo de abundancia de ninfas de *D. citri* durante 2015-2016. a.) Parcela con manejo integrado de plagas. b.) Parcela sin manejo integrado de plagas. (Ninfas = ninfas en múltiples estadios; Ninfas 3<sup>o</sup> - 5<sup>o</sup> Estadio = ninfas susceptibles de parasitismo de *T. radiata*; Ninfas parasitadas = ninfas parasitadas por *T. radiata*).**

## 7.6 Análisis de variables ambientales

El Cuadro 3 presenta las relaciones de asociación entre la variable dependiente y las variables independientes, de acuerdo a correlaciones de Spearman. Se encontró evidencia de una relación entre la abundancia de ninfas y las variables ambientales. La fluctuación de las poblaciones de ninfas sigue un patrón asociado a la humedad relativa (Anexo 33 y 34).

En la parcela MIP, se observó correlación positiva leve entre la abundancia de ninfas y la humedad relativa. De igual manera en la parcela sin MIP se estableció correlación positiva leve entre la abundancia de ninfas y la humedad relativa. Además se estableció correlación positiva leve entre la abundancia de ninfas y la temperatura (Anexo 33 y 34).

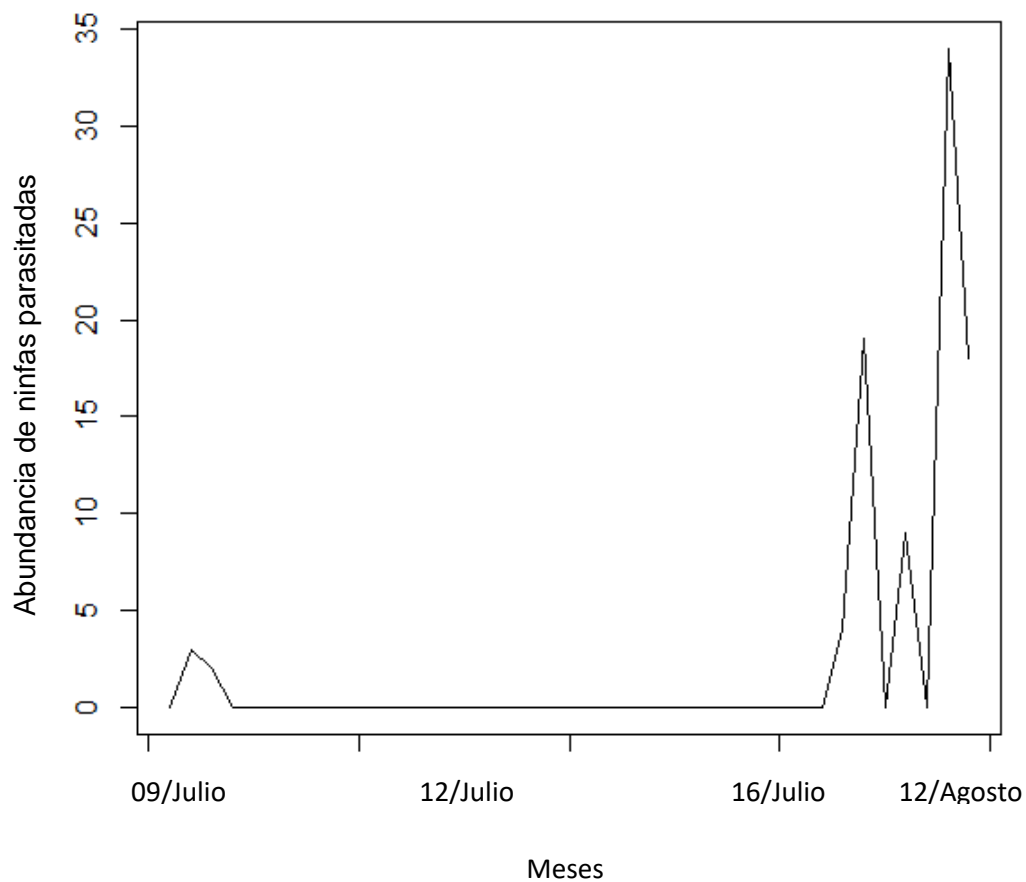
**Cuadro 3. Correlación de Spearman entre abundancia de ninfas y variables ambientales en las parcelas para la vigilancia y monitorización de *D. citri*.**

	ETAPA DE DESARROLLO	ESTADÍSTICO SPEARMAN	TEMPERATURA	TEMPERATURA MAXIMA	HUMEDAD RELATIVA
PARCELA MIP	Ninfas	Valor p	0.12	1.81 <sup>E-13</sup>	3.74 <sup>E-72</sup>
		rho	-0.02	-0.13	0.31
PARCELA SIN MIP	Ninfas	Valor p	0.02	-0.02	0.04
		rho	0.04	0.04	0.03

Fuente: datos obtenidos de data logger EL-USB-2-LCD L.E ubicado en parcelas de estudio.

### 7.7 Parasitismo de *T. radiata* en la población de *D. citri*.

La Figura 8 presenta los registros de abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas por *Tamarixia radiata* durante los muestreos 2015-2016. Los casos de parasitismo se registran durante la parte final del estudio, a partir del 9 de julio de 2016. La tasa de parasitismo se incrementa gradualmente, posterior a la aplicación de ácido bórico. Durante el 9 de julio se registró una tasa de 4%, el 16 de julio de 16%, el 29 de julio de 7%, el 12 de agosto de 54% y el 19 de agosto de 11%.



**Figura 8. Serie de tiempo de ninfas parasitadas en parcela MIP durante 2016.**



## 8. DISCUSION

### 8.1 EFECTIVIDAD DE CAPTURA DE PSÍLIDOS EN TRAMPAS CROMATICAS

Durante el periodo comprendido entre agosto de 2015 hasta mayo de 2016 no se detectaron psílicos adultos en las trampas (Fig. 4). Este hallazgo resulta inusual, ya que ambas parcelas presentaron una reducida abundancia de psílicos adultos. Esto contrasta con la detección directa de adultos realizada durante las inspecciones en el campo. Se determinó que la efectividad de las trampas cromáticas periféricas (Fig. 4) fue inferior a lo esperado. En el caso de la parcela MIP se capturaron 48 adultos. El crecimiento poblacional se detecta el 31 de mayo ( $n=4$ ), y se incrementa hasta registrarse la máxima captura el 9 de junio ( $n=14$ ). Las capturas de psílicos continúan hasta el 29 de julio. Se determinó que la mayor incidencia de psílicos se presentó en el sector sureste de la parcela. En este sector también se ubican algunos árboles de cítricos de traspatio. El promedio de adultos obtenido por inspección directa de brotes fue de 0.3 psílicos por brote.

En la parcela sin MIP se capturaron 18 adultos (Fig.4). Estos se empiezan a detectar en junio ( $n=2$ ). El 23 de junio se registra la máxima captura ( $n=12$ ). Las capturas de psílicos finalizan el 24 de julio. El promedio de adultos obtenido por inspección directa de brotes fue de 0.02 psílicos por brote. Resulta evidente que la parcela MIP presentó mayor abundancia de psílicos en comparación con la parcela sin MIP. La reducida tasa de captura de psílicos puede deberse a que las trampas no resultan atractivas, ya que existe disponibilidad de recursos alimenticios dentro de las parcelas (Ortega *et al.*, 2013, p. 319). Al no haber podas los árboles ofrecían brotes a los psílicos de manera permanente. Las trampas asociadas a arboles resultaron más efectivas para capturar a los psílicos que se alimentan dentro de la parcela. En estas se obtuvieron 10 eventos de captura, mientras que en las trampas periféricas se obtuvieron 7 eventos de captura.

## 8.2 ABUNDANCIA POBLACIONAL DE *Diaphorina citri* EN BROTES VEGETATIVOS

A partir del inicio del estudio se estableció presencia simultánea de huevos, ninfas y adultos de *D. citri* en ambas parcelas. Esto se constató mediante inspecciones de brotes en el campo. En la Fig. 3 se presenta la distribución del total de huevos, ninfas y adultos del psílido asiático *D. citri* en las plantaciones. Los estadios de *D. citri* estuvieron presentes durante la mayor parte del periodo de agosto de 2015 hasta agosto de 2016 (Fig. 3). La abundancia de huevos, ninfas y adultos de *D. citri* en la parcela MIP fue de 13,534 insectos. Este valor corresponde a 2.34 veces la abundancia registrada en la parcela sin MIP. Esto permite concluir que la parcela MIP presentó mayor abundancia de psílidos. El manejo integrado implementado no resultó efectivo para impedir el crecimiento poblacional de *Diaphorina citri* en la parcela estudiada.

### 8.2.1 ABUNDANCIA DE *Diaphorina citri* EN PARCELA MIP

Las medidas de control mediante insecticidas biológicos y liberación de parasitoides no redujeron considerablemente la población de *D. citri*. Las observaciones permitieron detectar un flujo de brotes vegetativos durante el período entre julio y agosto de 2015. En éste se observó un incremento en la abundancia de ninfas, evidente en el crecimiento observado durante el 8 de agosto (Fig.7a). La disponibilidad de brotes contribuyó a la elevada abundancia de psílidos registrada. En promedio, la plantación presentaba 27 brotes por árbol. Gradualmente la población de psílidos fue decreciendo durante el periodo comprendido entre el 14 de agosto al 04 de septiembre.

Sin embargo, esta tendencia se revierte, la población tiene crecimiento el 14 de septiembre, 2 de octubre y 8 de octubre (Fig. 7a). Este crecimiento posiblemente fue propiciado por las precipitaciones del 4 y 14 de septiembre (250 mm), las cuales inducen brotación vegetativa durante las primeras semanas de octubre. En este periodo ocurre un

incremento de las temperaturas de 26 a 28°C (Anexo 31). La humedad relativa también se incrementa de 70 a 82%. Se determinó la existencia de una leve correlación positiva entre la abundancia de ninfas y la humedad relativa ( $\rho=0.31$ ;  $p=3.74^{E-72}$ ) (Cuadro 3; Anexo 29). En el Anexo 33 se observa que los incrementos de abundancia de ninfas están asociados a la humedad relativa. A su vez, se obtuvo una leve correlación negativa entre la abundancia de ninfas y los registros de temperatura máxima ( $\rho= -0.13$ ;  $p=1.81^{E-13}$ ) (Cuadro 3; Anexo 29). Este patrón también puede observarse en el Anexo 33. Esto sugiere que los incrementos de temperatura por encima del promedio (28°C) resultan desfavorables para el psílido.

El periodo entre diciembre y abril fue determinante para la abundancia poblacional de *D. citri* en la parcela, ya que corresponde al periodo de sequía. Se registró una drástica reducción de la población durante el periodo comprendido entre el 7 de enero y el 12 de febrero (Fig.7a). En dicho momento la humedad relativa desciende de 82% (2 de octubre) a 53.8% (7 de enero). En este punto se observó la interrupción del crecimiento de brotes vegetativos en la parcela. Por ende, la población de psílicos dejó de tener alimento disponible para desarrollarse (Ortega *et al.*, 2013, p. 322).

En el siguiente periodo del 20 de febrero al 17 de marzo se presentó un leve crecimiento poblacional. En este periodo la humedad relativa se incrementó de 47% a 65%. Aparentemente éste incremento en la humedad influye en el crecimiento poblacional. El 17 de marzo se registran 130 ninfas, una temperatura de 28.7°C y 65% de HR. De acuerdo al estadístico de Spearman, existe una leve correlación entre la abundancia de ninfas y la humedad relativa ( $\rho= 0.03$ ;  $p=0.04$ ) (Cuadro 3; Anexo 29). Esto sugiere que los valores superiores al 60% de HR son favorables para el crecimiento de la población de *D. citri* (Anexo 33). Esta tendencia se revierte al presentarse una disminución gradual de la humedad relativa durante abril. En este periodo la humedad

promedio fue de 55.9%. La población continua menguando hasta alcanzar un mínimo el 28 de abril (n= 2 ninfas). Por lo anterior, se determina que la fluctuación poblacional de *D. citri* posee una tendencia irregular, con oscilaciones bastante amplias (Fig. 7a).

A partir del 7 de mayo la población se incrementa gradualmente. El máximo crecimiento de la población se presentó el 16 de junio (n= 1187 ninfas), este estuvo relacionado al flujo de brotes vegetativos y la temperatura media previo al muestreo (26.8°C) (Anexo 31 y 33). Durante el mes de junio la temperatura media fue 27.5°C, esta resulta adecuada para el crecimiento poblacional de *D. citri* (Tsai & Liu, 2000, p.1723).

Luego de este periodo de crecimiento ocurre una reducción de la población a partir del 30 de junio (Fig. 7a). Esto posiblemente puede atribuirse a la aplicación de aceite mineral junto con esporas de *M. anisopliae* y *P. lilacinus*. De manera gradual, el promedio de ninfas alcanza 330 individuos durante el periodo comprendido entre el 30 de junio y el 19 de agosto. Esto puede haber sido acrecentado por efecto de las precipitaciones frecuentes que ocurren durante el 9 de julio hasta el 12 de agosto (Anexo 31).

Cabe resaltar que durante el estudio se observaron plantaciones de cítricos con ninfas de *D. citri* en terrenos contiguos a la parcela MIP. Esto permite inferir que el psílido se ha expandido a estas zonas cercanas, las cuales le brindan refugio cuando no hay recursos disponibles en la plantación principal. Aparentemente esto genera una fuente desde la cual la población puede recuperarse y producir el contagio para el resto del área. Por tanto, las rutáceas aledañas son un elemento relevante para la dinámica del psílido (Hernández *et al.* 2013, p. 335).

De acuerdo al análisis de autocorrelación para la serie de tiempo de abundancia de ninfas (Anexo 10 y 15), la probabilidad de obtener el valor del estadístico Box-Ljung hasta el rezago 39 es cercano a 1553.72. La probabilidad de obtener tal valor de Box-

Ljung según la hipótesis nula es prácticamente inexistente. Se observó una tendencia irregular en el gráfico de autocorrelación, lo cual corresponde a un patrón no estacionario en las series analizadas. Esto permite establecer que las series de tiempo no son determinadas por procesos estocásticos (Anexo 9-18); además constituye evidencia para aceptar la hipótesis planteada (Gujarati & Porter, 2010, p. 752).

### **8.2.2 ABUNDANCIA DE *Diaphorina citri* EN PARCELA SIN MIP**

En esta parcela no se aplicaron insecticidas biológicos ni agroquímicos para controlar las poblaciones de insectos, por lo que resulta ideal para comparar los efectos de la ausencia de manejo integrado. La fluctuación poblacional de *D. citri* en este sitio ocurrió sin intervenciones. Durante el estudio se observaron diferencias en la disponibilidad de brotes, ya que crecen en periodos distintos a la parcela MIP; aparentemente esto produjo una fluctuación poblacional particular. Al inicio de la monitorización el 8 de agosto, se detectó una población regular ( $n=292$ ) (Fig. 7b). Sin embargo, se produjo una reducción considerable en la primera semana de septiembre ( $n=2$ ) (Fig. 7b). Luego, la dinámica de la población se modificó, durante septiembre se observó crecimiento hasta alcanzar 287 ninfas al inicio de octubre. Este crecimiento se corresponde con el flujo de brotes vegetativos que fue propiciado por las precipitaciones de septiembre (250 mm; Anexo 31). En esta parcela también se estableció correlación entre la temperatura media y la abundancia de ninfas ( $\rho=0.04$ ;  $p=0.02$ ) (Cuadro 3, Anexo 30). A su vez, la abundancia de ninfas se correlaciona con la humedad relativa ( $\rho=0.03$ ;  $p=0.04$ ) (Cuadro 3, Anexo 30). La asociación entre la fluctuación poblacional y la humedad relativa puede observarse en el Anexo 34.

Los muestreos correspondientes al 2016 evidencian una reducción de la abundancia. Durante el inicio de enero de 2016 la población ( $n=1$ ) carecía de brotes vegetativos por lo que se encontraba bastante reducida. Esta tendencia continuó durante

el periodo seco de los meses de enero y febrero (Anexo 31). El siguiente cambio en la dinámica poblacional se detectó el 20 de febrero. En este momento se observó un aumento en las variables predictoras respecto al registro previo. La temperatura aumenta de 24 a 27°C; a su vez, la humedad relativa se incrementa de 47 a 49.4%. El 10 de marzo se registra un crecimiento notable de 188 ninfas, bajo una temperatura de 27°C y 58.1% de HR (Fig. 7b). Esto apoya el crecimiento observado en la parcela MIP, conforme a lo establecido por Tsai & Liu (2000) en su estudio, ya que ocurre crecimiento en la población luego de temperaturas de 27 °C.

Luego de estos eventos ocurre crecimiento poblacional el 12 de abril (n=147) (29.9°C y 45% HR). En el periodo del 21 de abril al 7 de mayo se registra descenso poblacional. El 14 y 21 de mayo ocurre un incremento súbito de la población (n=198 y n=201 respectivamente) (Fig. 7b). Esto posiblemente ocurra en asociación a temperaturas de 29.5°C y 62.9% HR, aunado a la disponibilidad de brotes.

El 9 de junio la población se incrementó (n=207), gradualmente en los cuatro muestreos sucesivos la población disminuye. Esta reducción se atribuye al efecto de las precipitaciones continuas que arrojan a los estadios inmaduros del psílido de los brotes vegetativos. A continuación, se registró crecimiento el 6 de agosto (n=130) (Fig. 7b). Al comparar la fluctuación poblacional con la temperatura y humedad relativa se observa cierta asociación. El crecimiento poblacional parece ser dependiente de la fenología de la brotación de los árboles. En esta parcela los árboles no desarrollaron gran cantidad de brotes. La densidad observada en el campo fue de 14 brotes por árbol, en promedio. Sin embargo, se evidenció que el periodo con mayor crecimiento poblacional ocurre durante los meses de junio y octubre.

El análisis de autocorrelación estableció que la probabilidad de obtener el valor del estadístico Box-Ljung hasta el rezago 39 es cercano a 318.90 (Anexo 20 y 24). La

probabilidad de obtener dicho valor de Box-Ljung según la hipótesis nula es prácticamente inexistente. Esto permite establecer que las series de tiempo poseen un patrón no estacionario, ya que los coeficientes de autocorrelación fluctúan reduciendo su valor gradualmente (Anexo 19 al 26) (Gujarati & Porter, 2010, p. 752). Se obtuvo evidencia de que procesos no deterministas intervienen en la distribución de las poblaciones. Los resultados obtenidos de ambas parcelas permiten aceptar la hipótesis del estudio. Las diferencias en la abundancia poblacional de *D. citri* entre la parcela control y la parcela con manejo integrado de plagas no se deben al azar.

La presencia de *Diaphorina citri* en el área de estudio constituye un factor de riesgo fitosanitario para la región del oriente de Guatemala, debido a la alta capacidad del psílido para transmitir la infección. Luego de analizar el crecimiento de su población (Fig.7) se obtuvo evidencia del riesgo por el avance de la infección en las plantaciones (Anexo 32). En un año se determinó un incremento de 42% a 44% de plantas infectadas en la parcela MIP; en la parcela sin MIP la infección también se ha incrementado, ya que alcanzó un 19% (Anexo 32).

### **8.3 PARASITISMO POR *Tamarixia radiata***

La microavispa *T. radiata* posee la capacidad de ejercer control biológico clásico en las poblaciones de *D. citri* (Pluke *et al*, 2008). El seguimiento a liberaciones en la parcela MIP inició desde el 5 de marzo de 2015 (Anexo 8). De acuerdo con los estudios de Pin Lin (2015), las liberaciones del parasitoide deben efectuarse durante periodos con presencia de ninfas del 3° al 5° estadio, de lo contrario el parasitoide no se establecerá en la plantación. Durante los muestreos de 2015 y 2016 se esperaba encontrar múltiples casos de parasitismo. Sin embargo durante la mayor parte del estudio no fue posible ubicar ninfas parasitadas (Fig. 8). Esto se atribuyó al mutualismo establecido entre

hormigas y psílidos. Los árboles en que se realizaron los muestreos presentaron una gran cantidad de colonias de hormigas.

Los estudios en este ámbito han determinado que la participación de las hormigas en la comunidad de estudio reduce la supervivencia y la abundancia de enemigos naturales específicos de los hemípteros (Fernández, 2003, p. 154; Renault, Buffa & Delfino, 2005, p. 71). Fue posible observar gran cantidad de hormigas protegiendo a las ninfas de *D. citri*. Debido a la interacción de las hormigas, se implementó el uso de cebos de ácido bórico para eliminar su interferencia en los brotes (Fig. 6).

Luego de la introducción de cebos para hormigas en las ramas de los árboles de muestreo se observó un incremento notable en los casos de parasitismo. Inicialmente los casos de ninfas parasitadas en la parcela MIP se registran en magnitud muy reducida el 9 de julio (n=4), 16 de julio (n= 19), 29 de julio (n=9), 12 de agosto (n=34) y 19 de agosto (n=18) de 2016 (Fig. 7a). Los sucesivos muestreos permitieron constatar que *T. radiata* parasitaba los estadios susceptibles de *D. citri*. Las tasas de parasitismo más altas fueron registradas el 16 de julio (16%) y el 12 de agosto (54%).

Respecto a la serie de abundancia de ninfas parasitadas, el análisis de autocorrelación determinó que la probabilidad de obtener el valor del estadístico Box-Ljung hasta el rezago 39 es cercano a 210.49 (Anexo 13 y 18). La probabilidad de obtener ese valor de Box-Ljung según la hipótesis nula es prácticamente inexistente. Por consiguiente, se concluye que la densidad del parasitoide no es producto del azar. La densidad del parasitoide fue propiciada por las liberaciones previas, específicamente la realizada el 9 de julio (Cuadro 2).

Luego de liberar al parasitoide *T. radiata*, existe el riesgo de que parasite otras especies a las cuales no estaba dirigido, p.ej. especies nativas. Las especies nativas más



cercanamente emparentadas son las que tienen mayor probabilidad de ser atacadas (Louda, Pemberton, Johnson & Follet, 2003, p. 365). Sin embargo, no se tiene certeza de cuáles podrían ser estas especies. El estudio desarrollado por Hoddle & Pandey (2014) determinó que *T. radiata* posee especificidad por su hospedero *D. citri*. Por esta razón, se presume que no habrán impactos negativos como resultado de las liberaciones de *T. radiata* en el territorio (Hoddle & Pandey 2014, p.133). Se espera que contribuya al programa de manejo del HLB, regulando la población del psílido y previniendo su expansión (USDA, 2010, p.10).

#### **8.4 MUTUALISMO ENTRE HORMIGAS Y PSILIDOS**

Durante los muestreos se observó interacción entre hormigas y ninfas de *D. citri*. Este tipo de interacciones de mutualismo entre hormigas (Hymenoptera: Formicidae) y varios subordenes de Hemiptera son reportadas como abundantes (Del-Claro, Byk, Yugue & Morato, 2006, p. 415; Styrsky & Eubanks, 2007, p. 151; Zhou, Kuang, Gao & Liang, 2005, p. 1). Dichas interacciones interespecíficas involucran beneficios mutuos entre individuos de dos especies, las cuales experimentan un mayor *fitness* al cohabitar en el ambiente (Renault, Buffa & Delfino, 2005, p.71).

Las hormigas son atraídas por la mielecilla (secreción azucarada) producida por los estadios inmaduros de los hemípteros. Es un recurso alimenticio predecible y renovable (Way, 1963, p. 327). Esto anula la dependencia hacia otras fuentes de alimento en la planta, por lo que se dedican a protegerla (Way, 1963, p. 317; Way & Khoo, 1992, p. 480). Como consecuencia protegen a los hemípteros de depredadores y parasitoides (Buckley, 1987, p. 113; Moya-Raygoza, & Valle, 2014, p. 1379; Styrsky & Eubanks, 2007, p. 151). Dicha interacción resulta beneficiosa para los hemípteros ya que estimula su tasa de alimentación y la tasa reproductiva (Flatt & Weisser, 2000, p. 3526). A su vez, promueve el desarrollo de estadios e incrementa la dispersión de los insectos. Esto tiene

efectos negativos en las plantas, ya que generan alteraciones del crecimiento y propician la introducción de patógenos (Buckley, 1987, p. 112; Fernández, 2003, p. 190, Renault, Buffa & Delfino, 2005, p.71; Styrsky & Eubanks, 2007, p. 151).

### **8.5 EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN LA POBLACIÓN DE *D. citri***

Durante el estudio se presentó una reducción poblacional de los psílicos el 30 de junio de 2016, dos semanas después de la aplicación de una emulsión de aceite mineral con esporas de *P. lilacinus* + *M. anisopliae* (Fig. 6). Es probable que esta aplicación haya contribuido a dicha reducción, ya que se pretendió dirigir el efecto insecticida de los hongos entomopatógenos de manera combinada. En los ensayos de aislamiento de hongos, se aisló *M. anisopliae* a partir de psílicos colectados en la parcela (Anexo 27). Este hallazgo resulta relevante para el control de las poblaciones del psílido. El desempeño de estos hongos es determinado por la germinación de esporas, formación de hifas y su capacidad de supervivencia en el campo. Estos factores son influenciados por la temperatura, humedad relativa, incidencia de radiación solar, contaminantes orgánicos y antagonistas (Piatkowski & Krzyzewska, 2007, p. 256; Hallsworth & Magan, 1999, p. 261).

Bidochka *et al.* en sus estudios ha determinado que los hongos entomopatógenos *Metarhizium anisopliae* (2001, p.1341) y *Beauveria bassiana* (2002, p. 531) poseen preferencias de hábitat y temperatura, no necesariamente hacia determinados insectos hospederos. Posiblemente esto explique el desempeño de los hongos sobre la población de *D. citri* en la parcela de estudio. Arthurs & Thomas (2001, p. 64) sugieren que la adaptación de los hongos entomopatógenos al ambiente tiene implicaciones directas en su eficacia como controladores biológicos.

Luego de la aplicación de *Paecilomyces lilacinus* el 12 de agosto, no se observó una reducción evidente de ninfas. Sin embargo fue posible aislar *P. lilacinus* a partir de psíldos colectados el 19 de agosto de 2016 (Anexo 28). A pesar de la aplicación de conidias de *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces lilacinus* dirigida a los psíldos en los brotes de limón, no se obtuvo evidencia que tuvieran un efecto significativo en la población durante el período de estudio. Una posible razón es el impacto de la radiación solar en la germinación de las conidias. Existen estudios que demuestran su efecto negativo en la viabilidad de *Metarhizium anisopliae* (Braga *et al.*, 2001, p. 737; Rangel *et al.*, 2004, p. 81), *Beauveria bassiana* y *Paecilomyces lilacinus* (Thompson, Brandenburg, & Arends, 2006, p.401). En los trópicos la radiación solar emite longitudes de onda superiores a 280 nanómetros (Alves *et al.*, 1998, p.676). Por esta razón, es importante reducir el período de exposición a la radiación solar de las conidias, ya que su capacidad de germinación se reduce de manera proporcional al tiempo de exposición (Alves *et al.*, 1998, p.675). Para minimizar dicho impacto, las aplicaciones en la parcela MIP se realizaron durante el crepúsculo. Además, se adicionó 10% de aceite mineral a la formulación para optimizar la germinación de conidias. Esta medida incrementa la tolerancia de las conidias a la radiación ultravioleta (Alves *et al.*, 1998, p.678); sin embargo, puede que esta medida no haya sido suficiente para proteger las conidias.

## 9. CONCLUSIONES

- La abundancia de huevos, ninfas y adultos de *D. citri* en la parcela MIP fue de 13,534 insectos. Este corresponde a 2.34 veces el valor de la abundancia observada en la parcela sin MIP. En la parcela sin MIP se contabilizaron 5,575 insectos en distintos estadios.

- El MIP no resulta efectivo para impedir el crecimiento poblacional de *Diaphorina citri* en la parcela estudiada. Las medidas de control mediante insecticidas biológicos y liberación de parasitoides no redujeron considerablemente la población de *D. citri*.
- La parcela sin MIP tuvo una abundancia inferior de *Diaphorina citri*. La densidad observada en dicha parcela representa un 41% de lo observado en la parcela MIP.
- Las diferencias en la abundancia poblacional de *D. citri* entre la parcela control y la parcela con manejo integrado de plagas no se deben al azar. Se obtuvo evidencia de procesos deterministas en la distribución de las poblaciones.
- La abundancia poblacional de *D. citri* en la parcela MIP durante enero y febrero es reducida debido a la escasez de brotes vegetativos. La disponibilidad de recursos alimenticios es relevante para el crecimiento de las poblaciones de *D. citri*.
- El carácter no estacionario de las series de tiempo permite establecer que la densidad del parasitoide no es producto del azar. Por lo cual se infiere que tuvo un efecto sobre la abundancia poblacional de *D. citri*.
- El porcentaje de parasitismo alcanzado por *Tamarixia radiata* fue de 54%. El resto de casos de parasitismo fueron porcentajes inferiores al 20%. Por lo anterior el parasitoide no tuvo un efecto determinante para controlar la población de *D. citri* en la parcela MIP.
- Las poblaciones de *Diaphorina citri* en el área de estudio constituyen un factor de riesgo fitosanitario para la región del oriente de Guatemala debido a la alta capacidad del psílido para transmitir la infección y promover su expansión.
- La intervención en el manejo de las parcelas de estudio tendrá mayor efectividad al realizarse después de las precipitaciones de abril-mayo, esto es previo al crecimiento poblacional de *D. citri*.

## 10. RECOMENDACIONES

- Respecto a la metodología de muestreo, la efectividad del monitoreo mediante trampas periféricas para insectos adultos es inferior a la efectividad de trampas asociadas a árboles. Se requiere utilizar trampas asociadas a árboles en combinación con esfuerzo de monitoreo de brotes vegetativos para tener certeza de la presencia de psílicos adultos en las parcelas.
- Efectuar monitorización de psílicos y de incidencia de HLB de manera permanente. De esta manera se obtendrá un perfil completo de la dinámica poblacional del psílido. Esta información permite identificar los periodos críticos con niveles de máxima incidencia del psílido; tal como el periodo entre marzo y agosto en la localidad de estudio.
- Implementar programas de monitorización semanal, para determinar el estado de variables como: densidad de brotes, temperatura promedio, precipitación y abundancia de ninfas. Ello permitirá actuar de manera anticipada al crecimiento poblacional de *D. citri*.
- Incrementar el esfuerzo de muestreo para determinar la dinámica poblacional de adultos de *D. citri*; esto requerirá de monitorización directa de brotes vegetativos además de trampas cromáticas.
- Para obtener el control efectivo del vector en el área de estudio se requiere la participación de los productores locales y de las autoridades de vigilancia y monitoreo, con el propósito de realizar acciones de manera oportuna y coordinada.
- Es necesario implementar estrategias integradas de manejo a nivel nacional para reducir las poblaciones del psílido y la incidencia de HLB. Entre las regulaciones a seguir, los programas de reproducción de cítricos deben emplear invernaderos a

prueba de psíidos, así como material vegetativo y germoplasma libre de infección por HLB.

- La aplicación del parasitoide *T. radiata* debe realizarse junto con cebos de ácido bórico en la base de los árboles de toda la plantación.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alves, R., Bateman, R., Prior, C. & Leather, S. (1998). Effects of simulated solar radiation on conidial germination of *Metarhizium anisopliae* in different formulations. *Crop protection*, 17(8), 675-679.

Arthurs, S. & Thomas, M. (2001). Effects of temperature and relative humidity on sporulation of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* in mycosed cadavers of *Schistocerca gregaria*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78, 59–65.

Augustynuk, A. & Kram, K. (2012). Entomopathogenic fungi as an important natural regulator of insect outbreaks in forests. In J. Blanco, & Y. Lo. (Eds.), *Forest Ecosystems – More than Just Trees* (pp. 480). Croatia: InTech.

Baker, T.C., van Vorhis, S.E. & Gaston, L.K. (1985). Bait-preference tests for the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 78, 1083–1088.

Bale, J.S, van Lenteren, J.C. & Bigler, F. (2008). Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 363(1492): 761–776.

Barrera, J. Herrera, J., Gómez, J. & Valle, J. (2012). Muestreo de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en brotes de limón. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México.

Bayer. (2016). Aliette 80% WP. Recuperado de: [http://www.cropscience.bayer.cl/upfiles/etiquetas/Aliette\\_80\\_\\_WP\\_\(17-04-14\).pdf](http://www.cropscience.bayer.cl/upfiles/etiquetas/Aliette_80__WP_(17-04-14).pdf)

Bioatlántica S. de R. L. (2009). Recuperado de: <http://agropropanama.com/wp-content/uploads/2017/12/Ficha-de-Seguridad-Kabonim.pdf>

Bidochka, M.J., Kamp, A.M., Lavendar, T.M., Dekoning, J., & De Croos, A. (2001). Habitat association in two genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*: uncovering cryptic species? *Applied Environmental Microbiology*, 67, 1335–1342.

Bidochka, M.J., Menzies, F.V., Kamp, A.M. (2002). Genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Beauveria bassiana* are associated with habitat and thermal growth preferences. *Archive of Microbiology*, 178(6), 531–537.

Bové, J. M. (2006). Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*, 88, 7-37.

Braga, G., Flint, S., Miller, C., Anderson, A., & Roberts, D. (2001). Both solar UVA and UVB radiation impair conidial culturability and delay germination in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Photochemistry and Photobiology*, 74(5), 734-739.

Buckley, R.C. (1987). Interactions involving plants, Homoptera, and ants. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 18, 111–135.



BPDB. Bio-Pesticides DataBase. (2018). *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) strain P251. University of Herfordshire. Recuperado de: <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/bpdb/Reports/1400.htm>

Campos, E., de Oliveira, J., Pascoli, M., de Lima, R. & Fraceto, L. (2016). Neem Oil and Crop Protection: From Now to the Future. *Frontiers in plant science*, 7(1494), 1-6.

Carreño, I. (2003). Evaluación de la patogenicidad de diferentes hongos entomopatógenos para el control de la mosca blanca de la yuca *Aleurotrachelus sociales* Bondar (Homoptera: Aleyrodidae) bajo condiciones de invernadero. (Tesis de licenciatura). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.

Casique, R., Sánchez, B., López, E. K., Hernández, C., Bidochka M., Guízar, L., López, J. & Sánchez, S. (2015). Field trial of aqueous and emulsion preparations of entomopathogenic fungi against the asian citrus psyllid (Hemiptera: Liividae) in a lime orchard in Mexico. *Journal of Entomological Science*, 50(1), 79-87.

Chen, X. & Stansly, P. (2014). Biology of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of the citrus greening disease vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea): a mini review. *Florida Entomologist*, 97(4), 1404-1413.

Chen, Z.H., Xu, L., Yang, F., Ji, G.H., Yang, J., & Wang, J.Y. (2014). Efficacy of *Metarhizium anisopliae* isolate MAX-2 from Shangri-la, China under desiccation stress. *BMC Microbiology*, 14(4), 1-8.

Chen, X. (2013). Manipulation, rearing and storage of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). (Doctoral thesis). University of Florida.

Chien, C., Chu, Y. & Ku, S. (1991). Parasitic strategy, morphology and life history of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera, Eulophidae). *Chinese Journal of Entomology*, 11, 264-281.

Chow, Y.L. (2008). Sucrose bait base preference of selected urban pest ants (Hymenoptera: Formicidae). (p. 59-63). En: Robinson, W. & Bajomi, D. Proceedings of the sixth international conference on urban pests. Hungary: OOK Press.

da Graça, J. V., French, J. V., Haslem, P.S., Skaria, M., Sétamou, M. & Salas, B. (2008). Survey for the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* and citrus Huanglongbing (greening disease) in Texas. *Subtropical Plant Science*, 60, 21-26.

Del-Claro, K., Byk, J., Yague, G. M. & Morato, M. G. (2006). Conservative benefits in an ant-hemipteran association in the Brazilian tropical savanna. *Sociobiology* 47, 415-421.

Díaz, U. (2005). Fenología y calidad de la fruta del limón persa. Semana Internacional de la Citricultura. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. INIFAP. México.

Dreistadt, S. (2014). Pest notes: biological control and natural enemies of invertebrates. California: UC Statewide IPM Program. Recuperado de: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/PESTNOTES/pn74140.html>

EPA. U.S. Environmental Protection Agency. (2005). *Paecilomyces lilacinus* Biopesticides Registration Action Document. Recuperado de: [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/registration/decision\\_PC-028826\\_7-Jun-05.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/decision_PC-028826_7-Jun-05.pdf)

Etienne, J., Quilici, S., Marival, D. & Franck, A. (2001). Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Fruits*, 56, 307–315.

Fernández, F. (ed.). (2003). Introducción a las hormigas de la región Neotropical. En Delabie, J. & Fernández, F. (eds.) (pp. 181-185). Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.

Flatt, T. & Weisser, W. (2000). The effects of mutualistic ants on aphid life history traits. *Ecology*, 81(12), 3522–3529.

Flores, R., Romeo, A., Figueroa, J. (2005). Paquete tecnológico para el cultivo de limón en el Estado de Colima. Secretaria de Desarrollo Rural. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias.

Godfray, H. C. (2004). Parasitoids. *Current Biology*, 14(12).

Godoy, J., Valera, R., Guédez, C., Cañizalez, L. y Castillo, C. (2007). Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 24(3), 415-425.

González, C., Hernández, D., Cabrera, I., Tapia, J. (2002). *Diaphorina citri* Kuw., inventario y comportamiento de los enemigos naturales en la citricultura cubana. Taller sobre plagas emergentes de los cítricos. Resúmenes de las sesiones orales. Instituto de Investigaciones de Cítricos y otros Frutales. Cuba. pp. 1-11.

Gómez, M., Nava, D. & Postali, J. (2012). Life table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different temperatures, *Journal of Economical Entomology*, 105 (2), 338-343.

Gómez, E., Mesa, N., Huertas, C., Salazar, J., Imbachi, K., Mena, y Hernández, C. (Eds.) (2014). Programa de manejo fitosanitario en cítricos en el departamento del Valle del Cauca. (pp. 1-76) Colombia: FERIVA S.A.

Grafton, E. & Godfrey, K. (2006). Asian Citrus Psyllid. UC exotic invasive pests and diseases program. University of California. Recuperado de: <http://anrcatalog.ucanr.edu/pdf/8205.pdf>

Gujarati, D. & Porter, D. (2010). Econometría de series de tiempo. México: McGraw-Hill.

Gullan, P. & Cranston, P. (2010). *The insects: an outline of entomology*. United Kingdom: Wiley-Blackwell.

Halbert, S. & Manjunath, K. (2004). Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist*, 87(3), 330-353.

Halbert, S. & Núñez, C. (2004). Distribution of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the caribbean basin. *Florida Entomologist*, 87(3): 401-402.

Hall, D.R., Wenninger, E.J., & Hentz M.G. (2011). Temperature studies with the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. *Journal of Insect Science*, 11(83), 1-14.

Hall, G. D. (2010). Biology, history and world status of *Diaphorina citri*. II Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el Psílido Asiático de los Cítricos. Mérida, México. p. 1-2.

Hallman, G. & Denlinger, D. (1999). Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management. USA: Westview Print.

Hall, D., Richardson, M., Ammar, E., & Halbert, S. (2012). Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus huanglongbing disease. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146, 207–223.

Hall, D. G., Wenninger, E. J., & Hentz, M. G. (2011). Temperature studies with the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: cold hardiness and temperature thresholds for oviposition. *Journal of Insect Science*, 11(83) 1-15.

Hall, D., Setamou, S. & Mizell, R. (2010). A comparison of sticky traps for monitoring Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). *Crop Protection*, 29, 1341-1346.

Hallsworth, J. & Magan, N. (1999). Water and temperature relations of growth of the entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of invertebrate pathology*, 74. 261-6.

Hardy, S. (2004). *Growing lemons in Australia. A production manual*. South Wales Government. Australia.

Hernández, E., Vera, J., Ramírez, G., Pérez, S., López, J., Bautista, N., et al. (2009). Pronóstico de la fluctuación poblacional del minador de la hoja de crisantemo *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera: Agromizidae) mediante modelos de series de tiempo. *Acta Zoológica Mexicana*, 25(1), 21-32.

Hernández, L., López, J., García, C., Osorio, F., y Nava, M. (2013). Dinámica espacio-temporal de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en *Murraya paniculata* (L.) Jack en Cuitláhuac, Veracruz. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(2), 334-345.

Hoddle, M.S. & Pandey, R. (2014). Host Range Testing of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) sourced from the Punjab of Pakistan for classical biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae: Euphyllurinae: Diaphorinini) in California. *Journal of Economical Entomology*, 107(1), 125–136.

Hoffman, J. I. (2015). *Biostatistics for Medical and Biomedical Practitioners*. London: Elsevier.

Hoy, M., Nguyen, R., & Jeyparakash, A. (2006). Classical biological control of Asian citrus psyllid in Florida. *Florida IPM*. Recuperado de: [http://ipm.ifas.ufl.edu/Agricultural\\_IPM/psyllid.shtml](http://ipm.ifas.ufl.edu/Agricultural_IPM/psyllid.shtml)

Huang, G. y Chen, P. (2015). *Protocolo de diagnóstico de huanglongbing en hojas de cítricos*. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. El Salvador: OIRSA.

IBM Corp. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

INSIVUMEH. (2010). Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología. Recuperado de: <http://www.insivumeh.gob.gt/>

Khachatourians, G.G. (1996). Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. En: Howard, D. H.; Miller, J. D. (Eds.). *The Mycota*. (p. 331-364). Berlin: Springer.

Klotz, J. & Moss, J. (1996). Oral Toxicity of a Boric Acid - Sucrose Water Bait to Florida Carpenter Ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Entomological Science*. 31, 9-12.

Klotz, J., Rust, M., Field, H., Greenberg, L. & Kupfer, K. (2008). Controlling Argentine ants in residential settings (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*. 51, 579-588.

Lezama, R., Molina, J., Chávez, O., Ángel, C., Skoda, S., Reyes, G., Foster, J. (2012). Use of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Cordyceps bassiana* and *Isaria fumosorosea* to control *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Persian lime under field conditions. *International Journal of Tropical Insect Science*, 32(1), 39-44.

López, J., Jasso, J., Reyes, M., Loera, J., Cortez, E. & Miranda, M. A. (2008). *Perspectives for biological control of Diaphorina citri (Hemiptera: Psyllidae) in Mexico*. Florida: Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing.

Louda, S., Pemberton, R., Johnson, M., & Follett, P. (2003). Nontarget effects, the achilles' heel of biological control? Retrospective analyses to reduce risk associated with biological control introductions. *Annual Review of Entomology*, 48: 365–396.

MAGA. (2015). Huanglongbing -HLB- de los cítricos. Viceministerio de Vigilancia y Sanidad Agropecuaria. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Recuperado de: <http://visar.maga.gob.gt/?p=830>

Malpartida, J. (2013). Patogenicidad de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill., sobre el gusano defoliador del maracuyá *Dione juno* (Cramer) (Lepidoptera: Nymphalidae) en laboratorio. *Ecología Aplicada*, 12(2), 76-81.

Mann, R., Rouseff, R., Smoot, J., Castle W. & Stelinski, L. (2010). Sulfur volatiles from *Allium* spp. affect Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) response to citrus volatiles. *Bulletin of Entomological Research*, 101(1), 89-97.

McFarland, C. & Hoy, M. (2001). Survival of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), and its two parasitoids, *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Hymenoptera: Encyrtidae), under different relative humidities and temperature regimes. *Florida Entomologist*, 84(2), 227-233.



Medina U., Zapiaín, M., & Robles, M. (2007). Fenología, eficiencia productiva y calidad de fruta de cultivares de naranjo en el trópico seco de México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(2), 133-143.

Mead, F. & Fasulo, T. (2014). Asian citrus psyllid. University of Florida. Recuperado de: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/citrus/acpsyllid.htm>

Meyling, N. & Eilenberg, J. (2007). Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. *Biological Control*, 43, 145-155.

Michaud, J. (2002). Invasion of the Florida citrus ecosystem by *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) and asymmetric competition with a native species, *Cycloneda sanguínea*. *Population Ecology*, 31(5), 828-835.

Michaud, J. (2004). Natural mortality of asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biological Control*, 29, 260–269.

Mochizuki, A. (2010). *Invasive insects: problem and risk assessment*. Japan: Food & Fertilizer Technology Center (FFTC).

Motta, P. & Murcia, B. (2011). Hongos entomopatógenos como alternativa para el control biológico de plagas. *Ambiente & Agua*, 6(2), 77-90.

Moya-Raygoza, G. & Valle, A. (2014). Ants (Hymenoptera: Formicidae) and trophobiont leafhopper nymphs (Hemiptera: Cicadellidae) become more abundant in shaded conditions: implications for mutualism. *Florida Entomologist*, 97(4):1378-1385.

Muller, E. & Obermaier, E. (2012). Herbivore larval development at low springtime temperatures: the importance of short periods of heating in the field. *Psyche* (1), 1-7.

Nava, D., Torres, M., & Rodríguez, M. (2007). Biology of *Diaphorina citri* (Hemiptera, Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *Journal of Applied Entomology*, 131(9), 709-715.

Nufarm. (2018). Abamectina Agrogen 1.8 % ec. Recuperado desde: [http://www.nufarm.com/Assets/29438/1/Abamectina18\\_UY\\_2015.pdf](http://www.nufarm.com/Assets/29438/1/Abamectina18_UY_2015.pdf)

Obando, J., Bustillo, A., Castro, U., & Mesa C. (2013). Selección de cepas de *Metarhizium anisopliae* para el control de *Aeneolamia varia* (Hemiptera: Cercopidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 39(1), 26-33.

Onagbola, E., Boina, D., Hermann, S., & Stelinski L. (2009). Antennal sensillia of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 102, 523-531.

Ortega, L., Villegas, Á., Ramírez, A., & Mendoza, E. (2013). Abundancia estacional de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en plantaciones de cítricos en Cazonos, Veracruz, México. *Acta Zoológica Mexicana*, 29(2), 317-333.

OIRSA. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. (2014). La región del OIRSA avanza en el control de Huanglongbing y la implementación del manejo integrado de plagas (MIP) en los cítricos. Recuperado de: <http://www.oirsa.org/portal/noticia-2.html>

Paiva, P.E. & Parra, J.R. (2012). Natural parasitism of *Diaphorina citri* nymphs by *Tamarixia radiata* in Sao Paulo orange groves. *Revista Brasileira de Entomologia*, 56(4), 499-503.

Parker, C. T., Tindall, B. J. & Garrity, G. M. (2015). International Code of Nomenclature of Prokaryotes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.

Pérez, A. (3 de marzo de 2016). Comunicación personal. Coordinador de programa de monitorización de Huanglongbing -HLB- de los cítricos. Viceministerio de Vigilancia y Sanidad Agropecuaria. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación -MAGA.

Peshin, R. & Dhawan, A. (Ed.) (2009). Integrated pest management: innovation-development process. In: D. Orr (Ed.), *Biological Control and integrated pest management* (pp. 207-240) USA: Springer.

Piatkowski, J. & Krzyzewska, A. (2007). Influence of some physical factors on the growth and sporulation of entomopathogenic fungi. *Acta Mycologica*, 42(2):255-265.

Pin Lin, C. (2015). *Protocolo de manejo integrado del huanglongbing*. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria. El Salvador: OIRSA.

Pluke, R., Qureshi, J., & Stansly, P. (2008). Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. *The Florida Entomologist*, 91(1), 36-42.

Pucheta, M., Flores, M., Rodríguez, S. & De La Torre, M. (2006). Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos. *INCI*, 31(12), 856-860.

Quijano, J. (2013). Modelo de la dinámica poblacional de *Diaphorina citri* Kuwayama, vector de la enfermedad HLB de los cítricos. (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Qureshi, J.A. & Stansly, P. A. (2007). Integrated approaches for managing the asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 120, 110-115.

R Core Team. (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Austria. Recuperado de: <http://www.R-project.org/>

Ramírez, E.M. (2017). Detección de la bacteria *Candidatus liberibacter sp.*, agente causal de la enfermedad del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en tejido vegetal colectado en Guatemala en el año 2016. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Ramos, C. (2008). Huanglongbing (“citrus greening”) y el psílido asiático de los cítricos, una perspectiva de su situación actual. Recuperado de: <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/BibliotecaVirtual/CaracterizacionHLB.pdf>

Rangel, D. E. N., Braga, G. U. L., Flint, S. D., Anderson, A. J., & Roberts, D. W. (2004). Variations in UV-B tolerance and germination speed of *Metarhizium anisopliae* conidia produced on insects and artificial substrates. *Journal of Invertebrate Pathology*, 87(2), 77–83.

Rakhshani, E., & Saeedifar, A. (2013). Seasonal fluctuations, spatial distribution and natural enemies of Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in Iran. *Entomological Science*, (16), 17–25.

Renault, C.K., Buffa, L.M. & Delfino, M.A. (2005). An aphid-ant interaction: effects on different trophic levels. *Ecological Resources*, 20: 71–74

Ripa, R., Larral, P., & Rodríguez, S. (Eds.), (2012). Manejo Integrado de Plagas (MIP). En R. Ripa & P. Larral (Eds.). *Manejo de plagas en paltos y cítricos*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. (pp. 41-50). Chile: Ministerio de Agricultura.

Robles, M., Velázquez, J., Manzanilla, M., Orozco, M., Medina, V., López, I. & Flores, R. (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(1), 15-31.

Robles M., Velázquez, J., Manzanilla, M., Orozco, M., Flores, R. & López, I. (2011). Control químico de *Diaphorina citri* en limón mexicano. Insecticidas convencionales, productos alternativos y épocas de aplicación. Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Col., México: Folleto Técnico Núm. 1.

Rodríguez, M. (2002). Guía Técnica Limón Persa. El Salvador: Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal.

Romero, D.C. (2004). Efectos de la aplicación de *Paecilomyces lilacinus* en el control de *Meloidogyne* spp. en pepino. Recuperado de: <http://www.abiocontrollers.com/efectos-de-la-aplicacion-de-paecilomyces-lilacinus-en-el-control-de-meloidogyne-spp->

Sandoval, A.M. & Lomas, L.J. (2007). Incidencia, severidad, rango de hospederos y especie del nematodo del rosario de la raíz (*Nacobbus* sp.) en el cultivo de tomate de mesa (*Lycopersicum esculentum*) en el Valle del Chota y Pimampiro. (Tesis de licenciatura). Universidad Técnica del Norte, Ecuador.

SENASICA. (2012). Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos en México. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. Recuperado el 3/2/2015, desde: <http://www.senasica.gob.mx>

Serikawa, R. (2011). Electrical penetration graph investigations of asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) feeding behavior: effects of insecticides on the potential transmission of *Candidatus liberibacter asiaticus*. (Doctoral thesis). University of Florida. USA.

Shea, K. & Chesson, P. (2002). Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 17(1), 170–176.

Shahid, A., Qayyum, A., Bakhsh, A. & Husnain, T. (2012). Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archieve of Biological Science*, 64(1), 21-42.

SINAVEF. (2009). *Climatología Fitosanitaria. El cambio climático y su influencia en las plagas agrícolas*. México: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria.

Skelley, L. & Hoy, M. (2004) A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. *Biological Control*, 29, 14–23.

Silverman, J. & Roulston, T.H. (2001). Acceptance and intake of gel and liquid sucrose compositions by the Argentine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Economic Entomology*, 94, 511–515.

Simberloff D. & Stiling P. (1996). How risky is biological control? *Ecology*, 77: 1965-1974.

St. Leger, R. J. Roberts, D. W. (1997). Engineering improved mycoinsecticides. *Trends in Biotechnology*, 15, p. 83-87.

Styrsky, J. D. & Eubanks, M. D. (2007). Ecological consequences of interactions between ants and honeydew-producing insects. *Proceedings of the Royal Society B*, 274, 151–164.

Sumida, S., Da Silva-Zacarin, E., Decio, P., Malaspina, O., Bueno, F. & Bueno, O. (2010). Toxicological and Histopathological Effects of Boric Acid on *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) Workers. *Journal of Economic Entomology*, 103 (3), 676-690.

Syngenta. 2013. Ficha técnica Karate Zeon. Chile: Syngenta Agro, S.A. Recuperado de: <http://www3.syngenta.com/country/cl/cl/soluciones/proteccioncultivos/Documents/Etiquetas/KarateZeon.pdf>

Tan, T.Q., Ogden, A.K., Tillman, J., Demmler, G.J. & Rinaldi, M.G. (1992) Catheter-related fungemia in an immunocompromised pediatric patient. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(9), 2479–2483.

Tapia, G. & Esquivel, E. (2009). Plan regional de contingencia para la prevención y contención del Huanglongbing o Greening de los cítricos en los países miembros de OIRSA. El Salvador: Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria.

Tejacal, I., Arios, L., Lugo, A. & Ariza, R. (2011). Índice de cosecha en limón persa y naranja Valencia en Morelos: fenología e índice de cosecha de limón persa. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. México: Centro de Investigación Regional Pacífico Sur.

Terralia. (2018). *Paecilomyces lilacinus*. Recuperado de: [https://www.terralia.com/agroquimicos\\_de\\_mexico/view\\_composition?book\\_id=3&composition\\_id=12628](https://www.terralia.com/agroquimicos_de_mexico/view_composition?book_id=3&composition_id=12628)

Thompson, S.R., Brandenburg, R.L. & Arends, J.J. (2006). Impact of moisture and UV degradation on *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin conidial viability in turfgrass. *Biological Control*, 39, 401–407.

Tiago, P., Oliveira, N., & Lima, E. (2014). Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. *Ciência Rural*, 44(4), 645-651.



Tsai, J. & Liu, Y. (2000). Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. *Journal of Economical Entomology*, 93, 1921-1925.

Tsai, J., Wang, J. & Liu, Y. (2002). Seasonal abundance of the asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera:Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomologist*, 85(3), 446-450.

UC. (2015). University of California. Asian Citrus Psyllid. Recuperado de: [http://ucanr.edu/sites/KACCitrusEntomology/Home/Asian\\_Citrus\\_Psyllid/](http://ucanr.edu/sites/KACCitrusEntomology/Home/Asian_Citrus_Psyllid/)

USDA. (2010). Proposed release of a parasitoid (*Tamarixia radiata* Waterston) for the biological control of asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) in the continental United States. Environmental Assessment. United States Department of Agriculture.

Vargas, R. & Rodríguez, S. (2012). Dinámica de poblaciones. En R. Ripa & P. Larral, (Eds.). *Manejo de plagas en paltos y cítricos*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. (pp. 100-110). Chile: Ministerio de Agricultura.

Vayssières, J. F., De Meyer, M., Ouagoussounon, I., Sinzogan, A., Adandonon, A., Korie, S. *et al.* (2015). Seasonal abundance of mango fruit flies (Diptera: Tephritidae) and ecological implications for their management in mango and cashew orchards in Benin (Centre & North). *Ecology and Behaviour*, 108(5), 2213-2230.

Way, M. J. (1963). Mutualism between ants and honeydew-producing Homoptera. *Annual Review of Entomology*, 8(1), 307–344.

Way, M.J. & Khoo, K.C. (1992). Role of ants in pest management. *Annual Reviews of Entomology*, 37, 479-503.

Willmer, P. G. (1981). Microclimate and the environmental physiology of insects. In Berridge, M. J. , Treherne, J. E. & Wigglesworth, V. B. (Eds.), *Advances in insect physiology*. New York: Academic Press.

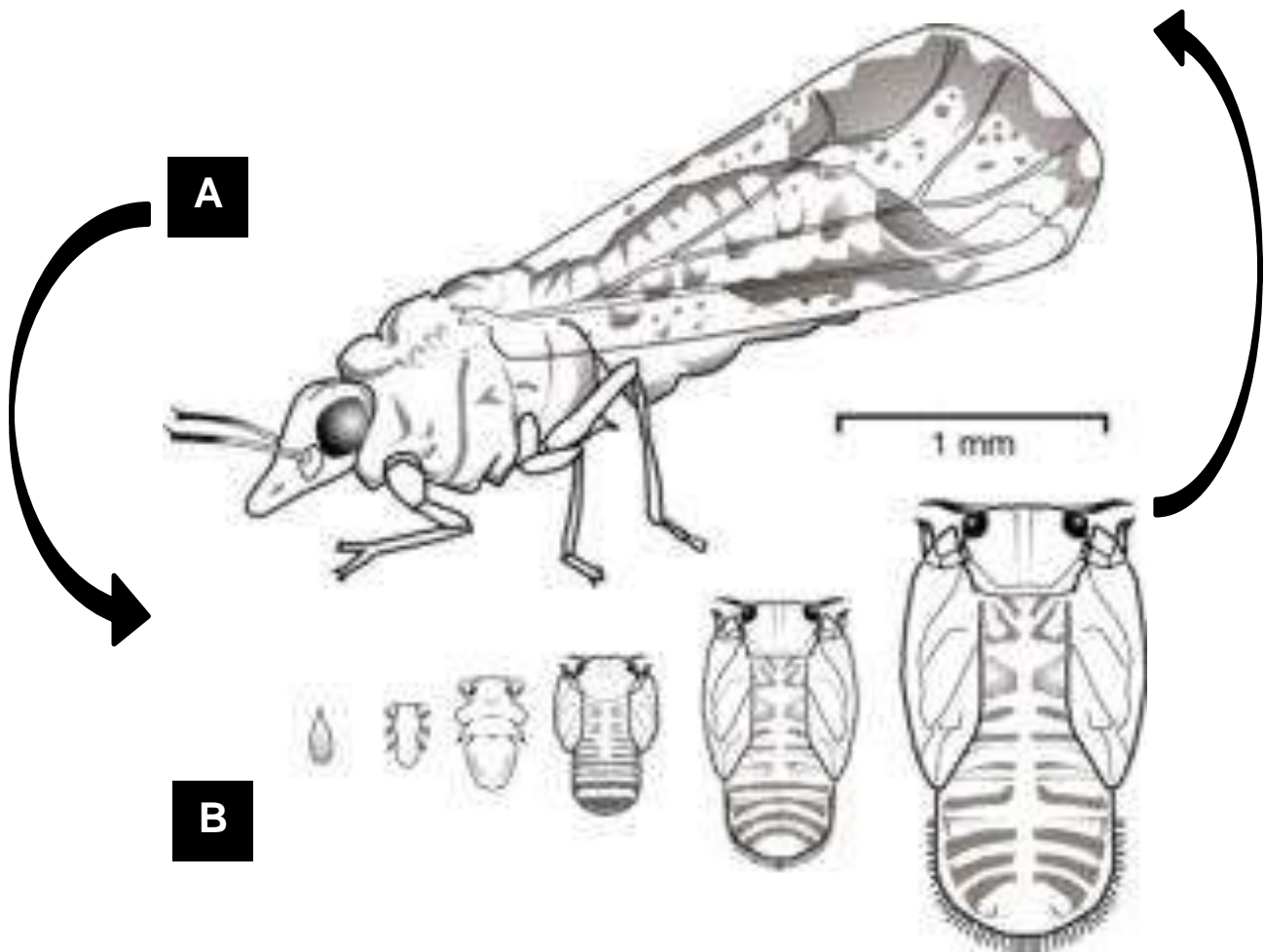
Zhou, A., Kuang, B., Gao, Y. & Liang, G. (2015). Density-Dependent Benefits in Ant-Hemipteran Mutualism? The Case of the Ghost Ant *Tapinoma melanocephalum* (Hymenoptera: Formicidae) and the Invasive Mealybug *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae). *PLoS ONE*, 10(4):1-12

Zimmermann, G. (1993). The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pesticide Science*. 37, 375 -379.

## 12. ANEXOS

### Anexo 1. Ciclo de vida de *Diaphorina citri*.

A. Psílido adulto. B. Huevo (izq.) y ninfas del 1° al 5° estadio (der.) Ilustración de Conville, G. Reproducido con autorización de Grafton, B. (UC, 2015).



**Anexo 2.** Parasitoide *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae).

Se observa una liberación de acuerdo al procedimiento establecido por MAGA, en brotes infestados por *D. citri* en la parcela con manejo integrado de plagas.



**Anexo 3.** Ninfas de *D. citri* parasitadas por *Tamarixia radiata*.

Las ninfas fueron colectadas en la parcela MIP. En cada hemíptero se observa una larva del ectoparasitoide en la sección ventral.



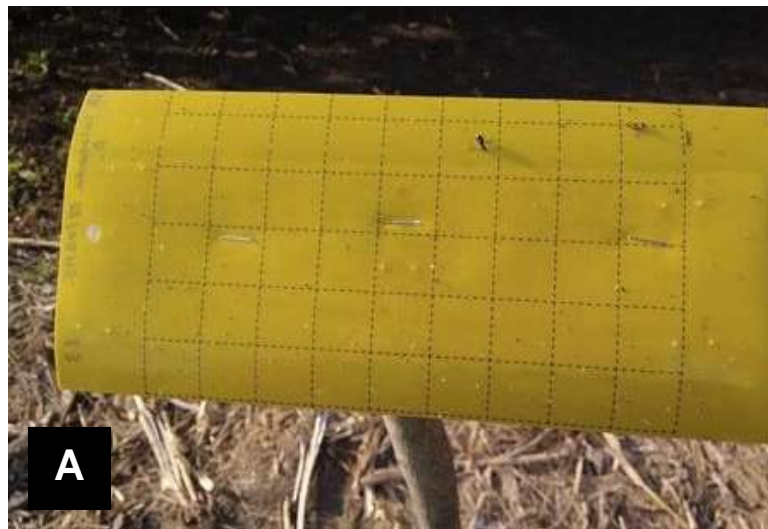
**Anexo 4.** Parcela de limón persa para monitorización de *D. citri* bajo tratamiento de manejo integrado de plagas.



**Anexo 5.** Parcela de limón persa para monitorización de *D. citri* sin tratamiento de manejo integrado de plagas.



**Anexo 6.** Trampas cromáticas para la captura de psílicos adultos.  
A. trampa periférica B. trampa asociada a árboles.





**Anexo 7.** Inspección de brotes infestados con *D. citri*.



**Anexo 8.** Eventos de liberación de *Tamarixia radiata* en parcela con manejo integrado de plagas durante 2015 y 2016.

<b>FECHA</b>	<b>CANTIDAD DE INDIVIDUOS LIBERADOS</b>
05-mar-15	200
31-mar-15	400
30-abr-15	200
07-may-15	200
14-may-15	200
10-jun-15	200
17-jun-15	200
30-jun-15	300
08-jul-15	400
21-jul-15	200
28-jul-15	200
09-jul-16	100

**Anexo 9.** Autocorrelación de serie abundancia de huevos de *Diaphorina citri* en parcela MIP durante 2015 y 2016.

Serie: huevos

Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung	
		Estándar	Valor	gl	Sig.
1	.206	.018	127.772	1	.000
2	.085	.019	149.635	2	.000
3	.144	.019	212.155	3	.000
4	.115	.020	251.857	4	.000
5	.076	.020	269.336	5	.000
6	.091	.020	294.112	6	.000
7	.164	.020	375.505	7	.000
8	.142	.020	436.167	8	.000
9	.107	.021	470.926	9	.000
10	.142	.021	531.565	10	.000
11	.126	.021	579.269	11	.000
12	.049	.021	586.398	12	.000
13	.088	.022	609.862	13	.000
14	.097	.022	638.377	14	.000
15	.080	.022	657.572	15	.000
16	.035	.022	661.191	16	.000
17	.070	.022	675.851	17	.000
18	.116	.022	716.374	18	.000
19	.058	.022	726.490	19	.000
20	.094	.022	753.433	20	.000
21	.123	.022	798.816	21	.000
22	.044	.023	804.803	22	.000
23	.037	.023	808.945	23	.000
24	.072	.023	824.664	24	.000
25	.054	.023	833.590	25	.000
26	.055	.023	842.811	26	.000
27	.089	.023	866.880	27	.000
28	.041	.023	871.954	28	.000
29	.054	.023	880.916	29	.000
30	.038	.023	885.349	30	.000
31	.038	.023	889.641	31	.000
32	.060	.023	900.620	32	.000
33	.060	.023	911.654	33	.000
34	.060	.023	922.466	34	.000
35	.060	.023	933.369	35	.000
36	.063	.023	945.269	36	.000
37	.069	.023	959.842	37	.000
38	.058	.023	970.055	38	.000
39	.045	.023	976.157	39	.000

**Anexo 10.** Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* en parcela MIP durante 2015 y 2016.

Serie: ninfas

Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung	
		Estándar	Valor	gl	Sig.
1	.257	.018	198.762	1	.000
2	.182	.019	298.132	2	.000
3	.109	.020	334.010	3	.000
4	.150	.020	401.683	4	.000
5	.154	.021	473.137	5	.000
6	.117	.021	514.294	6	.000
7	.099	.021	543.804	7	.000
8	.105	.021	577.033	8	.000
9	.091	.021	601.991	9	.000
10	.131	.022	653.501	10	.000
11	.106	.022	687.673	11	.000
12	.121	.022	731.982	12	.000
13	.094	.022	758.425	13	.000
14	.144	.022	820.653	14	.000
15	.085	.023	842.505	15	.000
16	.141	.023	902.572	16	.000
17	.108	.023	937.511	17	.000
18	.112	.023	975.282	18	.000
19	.101	.023	1006.267	19	.000
20	.096	.024	1033.942	20	.000
21	.087	.024	1056.839	21	.000
22	.127	.024	1105.499	22	.000
23	.084	.024	1126.613	23	.000
24	.101	.024	1157.615	24	.000
25	.099	.024	1187.212	25	.000
26	.093	.024	1213.495	26	.000
27	.097	.025	1241.780	27	.000
28	.075	.025	1258.750	28	.000
29	.070	.025	1273.448	29	.000
30	.107	.025	1307.882	30	.000
31	.097	.025	1336.512	31	.000
32	.093	.025	1362.967	32	.000
33	.046	.025	1369.446	33	.000
34	.083	.025	1390.249	34	.000
35	.115	.025	1430.472	35	.000
36	.098	.025	1459.411	36	.000
37	.087	.026	1482.439	37	.000
38	.109	.026	1518.713	38	.000
39	.107	.026	1553.726	39	.000

**Anexo 11.** Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* susceptibles de parasitismo en parcela MIP durante 2015 y 2016.

Serie: estadios susceptibles

Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung	
		Estándar	Valor	gl	Sig.
1	.124	.018	45.917	1	.000
2	.122	.019	90.343	2	.000
3	.073	.019	106.528	3	.000
4	.057	.019	116.400	4	.000
5	.091	.019	141.222	5	.000
6	.031	.019	144.079	6	.000
7	.047	.019	150.815	7	.000
8	.019	.019	151.849	8	.000
9	.016	.019	152.657	9	.000
10	.049	.019	159.939	10	.000
11	.086	.019	182.255	11	.000
12	.059	.019	192.728	12	.000
13	.041	.019	197.674	13	.000
14	.035	.019	201.359	14	.000
15	.039	.019	205.851	15	.000
16	.044	.019	211.772	16	.000
17	.024	.020	213.482	17	.000
18	.009	.020	213.714	18	.000
19	.035	.020	217.474	19	.000
20	.004	.020	217.511	20	.000
21	.027	.020	219.657	21	.000
22	.017	.020	220.486	22	.000
23	.001	.020	220.487	23	.000
24	.025	.020	222.440	24	.000
25	.002	.020	222.451	25	.000
26	.022	.020	223.898	26	.000
27	.018	.020	224.889	27	.000
28	.029	.020	227.452	28	.000
29	.025	.020	229.337	29	.000
30	-.008	.020	229.540	30	.000
31	.035	.020	233.161	31	.000
32	.026	.020	235.172	32	.000
33	.026	.020	237.151	33	.000
34	.036	.020	241.093	34	.000
35	.005	.020	241.171	35	.000
36	.043	.020	246.716	36	.000
37	.031	.020	249.619	37	.000
38	.011	.020	250.003	38	.000
39	-.003	.020	250.024	39	.000

**Anexo 12.** Autocorrelación de serie abundancia de adultos de *Diaphorina citri* en parcela MIP durante 2015 y 2016.

Serie: adultos

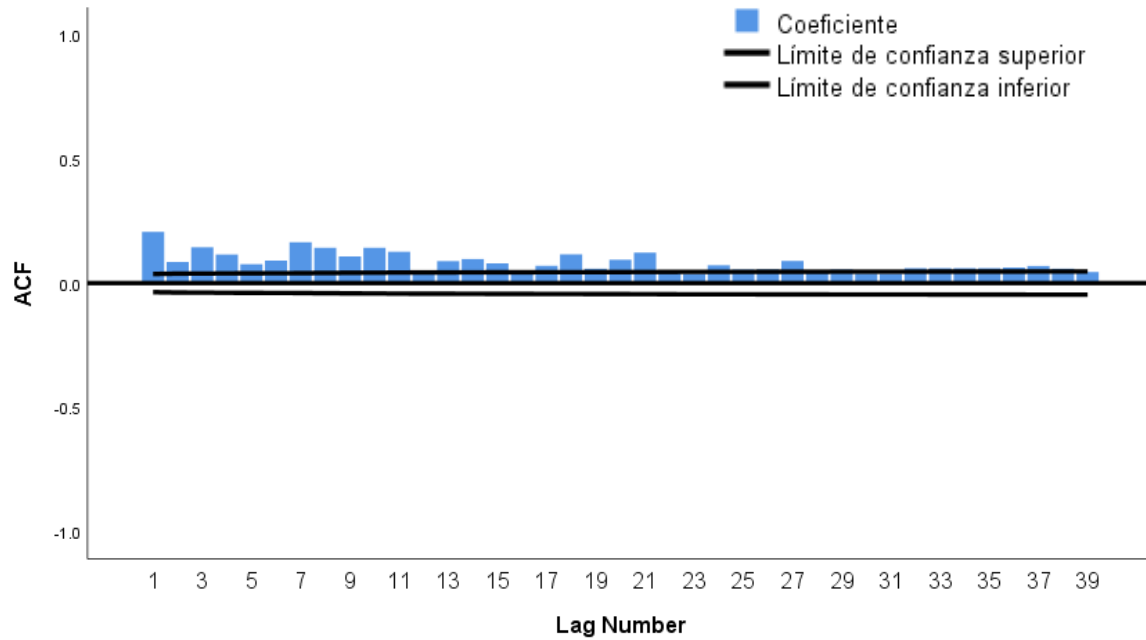
Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung	
		Estándar	Valor	gl	Sig.
1	.128	.018	49.041	1	.000
2	.019	.019	50.176	2	.000
3	.011	.019	50.560	3	.000
4	.011	.019	50.945	4	.000
5	.003	.019	50.975	5	.000
6	.030	.019	53.730	6	.000
7	.011	.019	54.115	7	.000
8	.006	.019	54.219	8	.000
9	.019	.019	55.355	9	.000
10	-.002	.019	55.370	10	.000
11	.001	.019	55.371	11	.000
12	-.002	.019	55.385	12	.000
13	.001	.019	55.386	13	.000
14	-.008	.019	55.560	14	.000
15	.022	.019	57.046	15	.000
16	.003	.019	57.078	16	.000
17	.044	.019	62.887	17	.000
18	-.005	.019	62.959	18	.000
19	.012	.019	63.360	19	.000
20	.006	.019	63.473	20	.000
21	.036	.019	67.367	21	.000
22	.006	.019	67.480	22	.000
23	.014	.019	68.091	23	.000
24	.003	.019	68.126	24	.000
25	-.005	.019	68.194	25	.000
26	.009	.019	68.437	26	.000
27	.001	.019	68.439	27	.000
28	.033	.019	71.806	28	.000
29	.012	.019	72.224	29	.000
30	.017	.019	73.117	30	.000
31	-.002	.019	73.127	31	.000
32	.012	.019	73.545	32	.000
33	-.007	.019	73.703	33	.000
34	-.007	.019	73.862	34	.000
35	-.007	.019	74.021	35	.000
36	-.007	.019	74.180	36	.000
37	.025	.019	76.120	37	.000
38	.090	.019	100.898	38	.000
39	-.007	.019	101.054	39	.000

**Anexo 13.** Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas en parcela MIP durante 2015 y 2016.

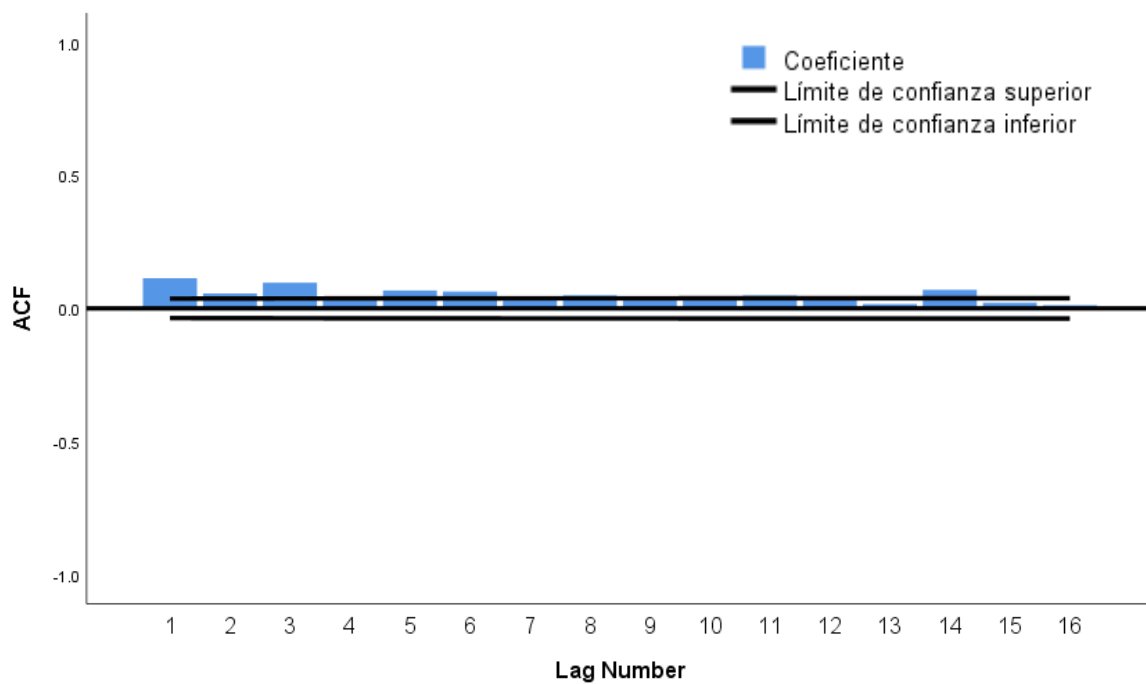
Series: ninfas parasitadas

Rezago	Autocorrelación	Error Estándar	Estadístico Box-Ljung		
			Valor	gl	Sig.
1	.082	.018	20.036	1	.000
2	.108	.018	55.186	2	.000
3	.002	.019	55.201	3	.000
4	.050	.019	62.682	4	.000
5	.016	.019	63.484	5	.000
6	.004	.019	63.532	6	.000
7	-.007	.019	63.664	7	.000
8	.011	.019	64.030	8	.000
9	-.007	.019	64.163	9	.000
10	.030	.019	66.955	10	.000
11	-.007	.019	67.088	11	.000
12	.002	.019	67.102	12	.000
13	-.007	.019	67.235	13	.000
14	.002	.019	67.250	14	.000
15	.011	.019	67.616	15	.000
16	.048	.019	74.597	16	.000
17	.009	.019	74.855	17	.000
18	.025	.019	76.763	18	.000
19	.002	.019	76.777	19	.000
20	.161	.019	155.222	20	.000
21	-.007	.019	155.356	21	.000
22	-.007	.019	155.491	22	.000
23	-.007	.019	155.625	23	.000
24	-.007	.019	155.760	24	.000
25	-.007	.019	155.894	25	.000
26	.013	.019	156.396	26	.000
27	.048	.019	163.488	27	.000
28	.055	.019	172.804	28	.000
29	-.006	.019	172.927	29	.000
30	-.006	.019	173.050	30	.000
31	.027	.019	175.291	31	.000
32	.025	.019	177.251	32	.000
33	.031	.019	180.114	33	.000
34	.036	.019	184.050	34	.000
35	.029	.019	186.594	35	.000
36	.082	.019	206.984	36	.000
37	.031	.019	209.849	37	.000
38	-.006	.019	209.973	38	.000
39	.013	.019	210.490	39	.000

**Anexo 14.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de huevos de *Diaphorina citri* en parcela MIP durante 2015 y 2016.

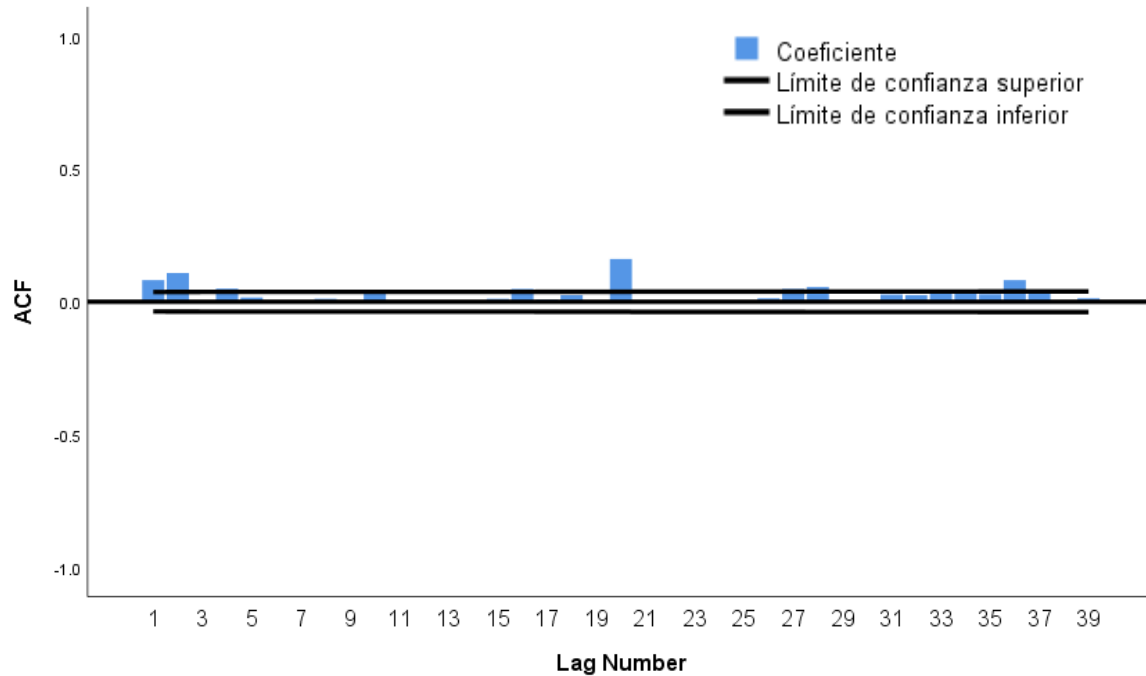


**Anexo 15.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* en parcela MIP durante 2015 y 2016.

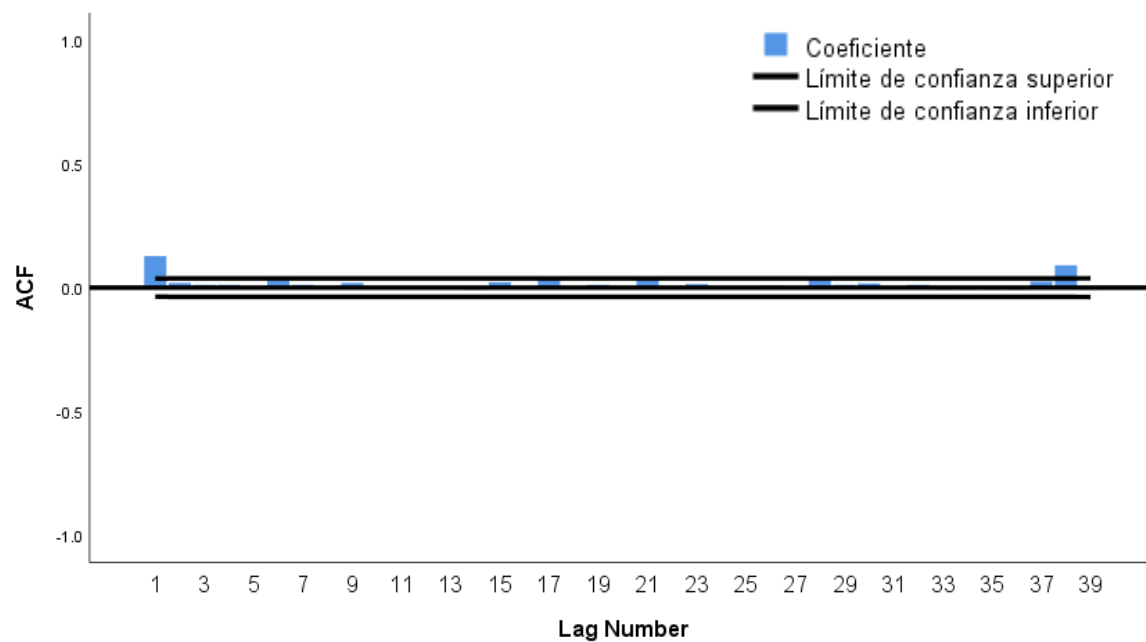




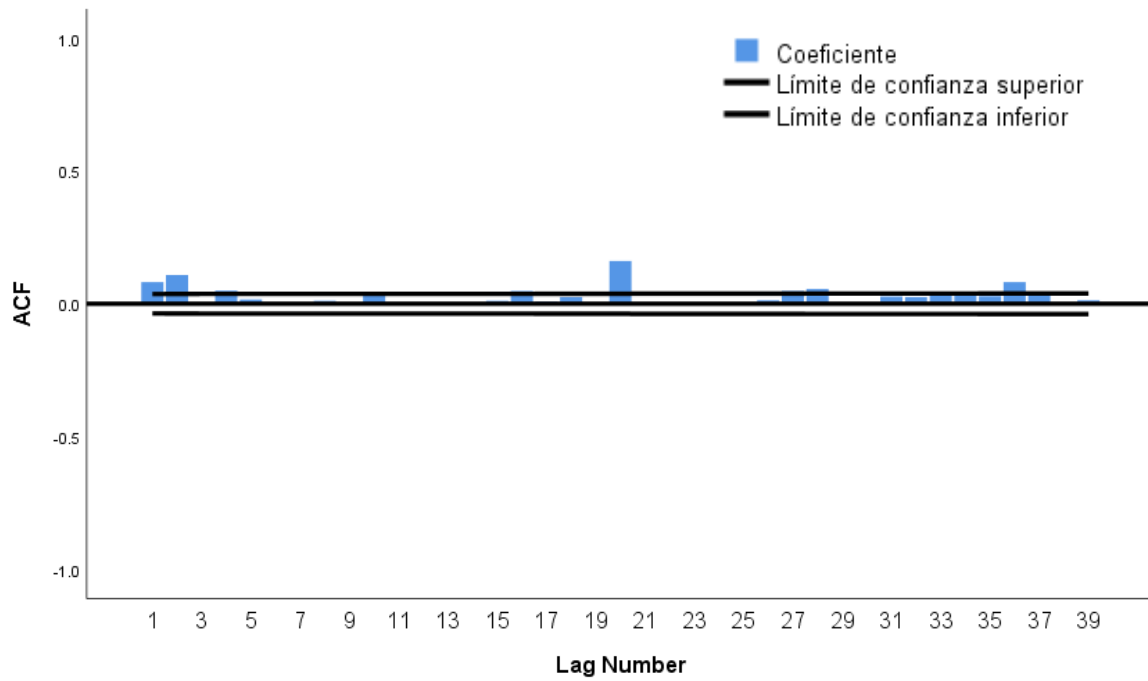
**Anexo 16.** Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* susceptibles de parasitismo en parcela MIP durante 2015 y 2016.



**Anexo 17.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de adultos de *Diaphorina citri* en parcela MIP durante 2015 y 2016.



**Anexo 18.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas en parcela MIP durante 2015 y 2016.



**Anexo 19.** Autocorrelación de serie abundancia de huevos de *Diaphorina citri* en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.

Serie: huevos

Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung		Sig.
		Estándar	Valor	gl		
1	.053	.018	8.540	1	.003	
2	.039	.018	13.035	2	.001	
3	.014	.018	13.593	3	.004	
4	.015	.018	14.262	4	.007	
5	-.008	.018	14.476	5	.013	
6	-.007	.018	14.640	6	.023	
7	.039	.018	19.174	7	.008	
8	.001	.018	19.176	8	.014	
9	-.014	.018	19.784	9	.019	
10	.014	.018	20.387	10	.026	
11	-.006	.018	20.494	11	.039	
12	.005	.018	20.560	12	.057	
13	.013	.018	21.057	13	.072	
14	.050	.018	28.742	14	.011	
15	.005	.018	28.818	15	.017	
16	.009	.018	29.042	16	.024	
17	.006	.018	29.158	17	.033	
18	.030	.018	31.834	18	.023	
19	-.006	.018	31.955	19	.032	
20	.009	.018	32.213	20	.041	
21	-.016	.018	32.939	21	.047	
22	-.013	.018	33.486	22	.055	
23	-.017	.018	34.379	23	.060	
24	.015	.018	35.044	24	.068	
25	-.005	.018	35.117	25	.086	
26	-.002	.018	35.129	26	.109	
27	.044	.018	40.903	27	.042	
28	.022	.019	42.402	28	.040	
29	.018	.019	43.411	29	.042	
30	.008	.019	43.621	30	.052	
31	.007	.019	43.753	31	.064	
32	-.002	.019	43.760	32	.080	
33	.014	.019	44.368	33	.089	
34	-.014	.019	44.982	34	.099	
35	-.006	.019	45.076	35	.118	
36	-.007	.019	45.239	36	.139	
37	.008	.019	45.421	37	.161	
38	.019	.019	46.469	38	.163	
39	-.003	.019	46.504	39	.191	

**Anexo 20.** Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.

Serie: ninfas

Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung		
		Estándar	Valor	gl	Sig.	
1	.114	.018	38.824	1	.000	
2	.056	.018	48.205	2	.000	
3	.097	.019	76.359	3	.000	
4	.041	.019	81.401	4	.000	
5	.067	.019	94.882	5	.000	
6	.063	.019	106.996	6	.000	
7	.039	.019	111.619	7	.000	
8	.049	.019	118.913	8	.000	
9	.041	.019	123.867	9	.000	
10	.037	.019	127.984	10	.000	
11	.048	.019	135.033	11	.000	
12	.033	.019	138.279	12	.000	
13	.017	.019	139.101	13	.000	
14	.070	.019	153.922	14	.000	
15	.022	.019	155.331	15	.000	
16	.012	.019	155.764	16	.000	
17	.014	.019	156.368	17	.000	
18	.010	.019	156.664	18	.000	
19	.051	.019	164.384	19	.000	
20	.192	.019	276.177	20	.000	
21	.106	.020	309.857	21	.000	
22	.012	.020	310.323	22	.000	
23	.022	.020	311.744	23	.000	
24	-.004	.020	311.797	24	.000	
25	.009	.020	312.040	25	.000	
26	-.004	.020	312.082	26	.000	
27	.012	.020	312.515	27	.000	
28	.006	.020	312.624	28	.000	
29	.013	.020	313.128	29	.000	
30	.003	.020	313.162	30	.000	
31	.010	.020	313.492	31	.000	
32	.008	.020	313.686	32	.000	
33	.002	.020	313.700	33	.000	
34	.008	.020	313.880	34	.000	
35	.038	.020	318.255	35	.000	
36	.011	.020	318.599	36	.000	
37	-.004	.020	318.646	37	.000	
38	.009	.020	318.871	38	.000	
39	-.003	.020	318.903	39	.000	

**Anexo 21.** Autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* susceptibles de parasitismo en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.

Serie: estadios susceptibles de parasitismo

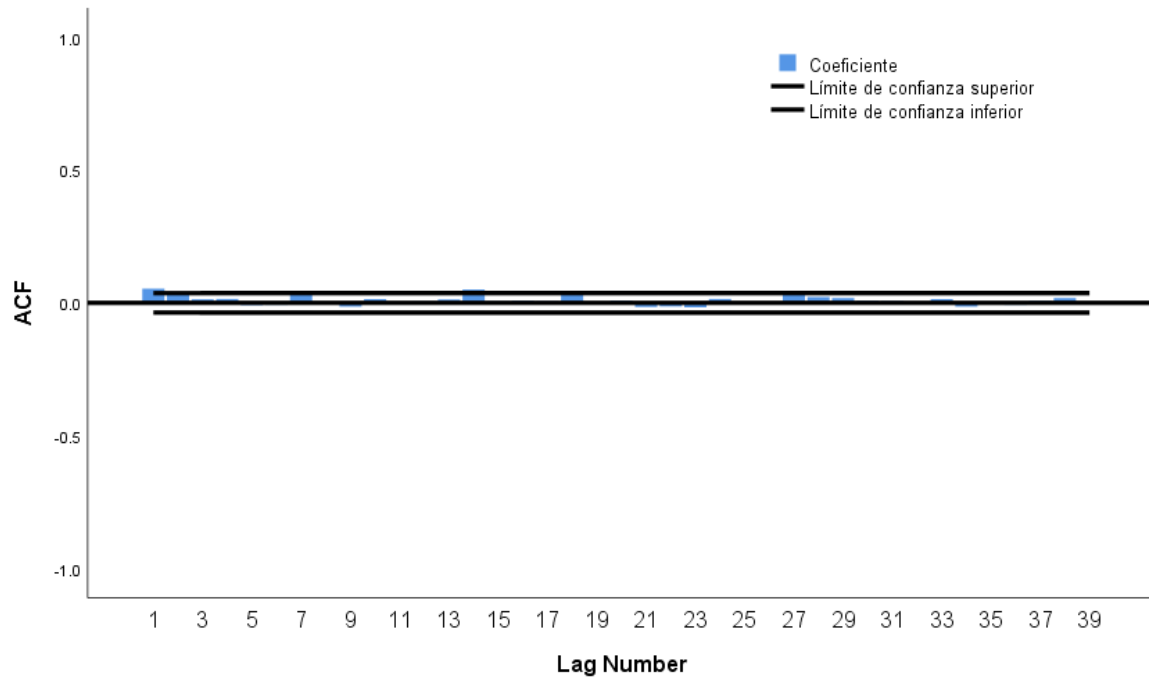
Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung	
		Estándar	Valor	gl	Sig.
1	.010	.018	.277	1	.599
2	.033	.018	3.585	2	.167
3	.013	.018	4.095	3	.251
4	.004	.018	4.150	4	.386
5	.006	.018	4.268	5	.512
6	.011	.018	4.620	6	.593
7	.002	.018	4.633	7	.705
8	.024	.018	6.325	8	.611
9	.018	.018	7.247	9	.611
10	.020	.018	8.476	10	.582
11	.002	.018	8.486	11	.669
12	.008	.018	8.679	12	.730
13	.010	.018	8.985	13	.774
14	.142	.018	69.353	14	.000
15	.002	.019	69.368	15	.000
16	.005	.019	69.449	16	.000
17	.024	.019	71.141	17	.000
18	.006	.019	71.251	18	.000
19	.000	.019	71.252	19	.000
20	.024	.019	72.987	20	.000
21	.005	.019	73.070	21	.000
22	.000	.019	73.070	22	.000
23	.095	.019	100.454	23	.000
24	.002	.019	100.466	24	.000
25	.006	.019	100.562	25	.000
26	.003	.019	100.597	26	.000
27	.001	.019	100.601	27	.000
28	.030	.019	103.280	28	.000
29	.001	.019	103.287	29	.000
30	.004	.019	103.347	30	.000
31	.002	.019	103.356	31	.000
32	.001	.019	103.359	32	.000
33	.000	.019	103.359	33	.000
34	.001	.019	103.363	34	.000
35	.000	.019	103.363	35	.000
36	.002	.019	103.370	36	.000
37	.001	.019	103.375	37	.000
38	-.001	.019	103.376	38	.000
39	-.002	.019	103.389	39	.000

**Anexo 22.** Autocorrelación de serie abundancia de psílicos adultos de *Diaphorina citri* en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.

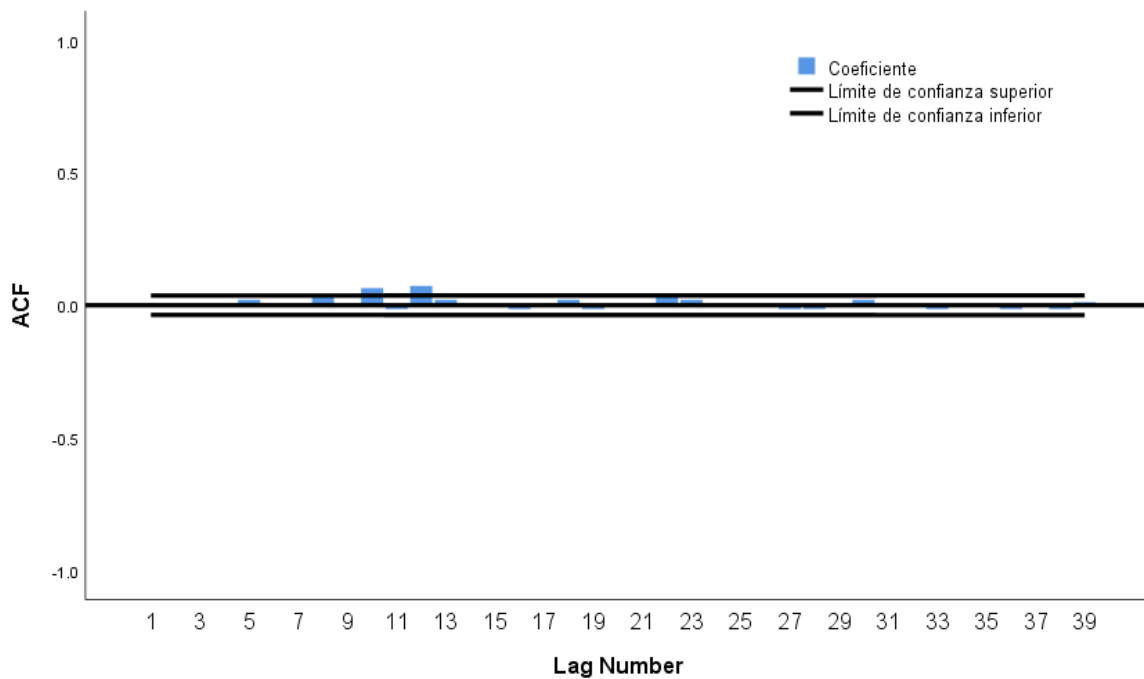
Serie: adultos

Rezago	Autocorrelación	Error		Estadístico Box-Ljung	
		Estándar	Valor	gl	Sig.
1	.003	.018	.031	1	.861
2	-.006	.018	.123	2	.940
3	.003	.018	.154	3	.985
4	-.006	.018	.247	4	.993
5	.021	.018	1.529	5	.910
6	.003	.018	1.560	6	.955
7	-.006	.018	1.653	7	.977
8	.038	.018	6.028	8	.644
9	-.006	.018	6.122	9	.728
10	.064	.018	18.588	10	.046
11	-.014	.018	19.208	11	.057
12	.073	.018	35.299	12	.000
13	.021	.018	36.580	13	.000
14	.003	.018	36.610	14	.001
15	-.006	.018	36.705	15	.001
16	-.014	.018	37.328	16	.002
17	-.006	.018	37.423	17	.003
18	.021	.018	38.704	18	.003
19	-.014	.018	39.328	19	.004
20	-.006	.019	39.424	20	.006
21	-.006	.019	39.521	21	.008
22	.038	.019	43.947	22	.004
23	.021	.019	45.253	23	.004
24	.003	.019	45.285	24	.005
25	-.005	.019	45.376	25	.008
26	-.005	.019	45.466	26	.010
27	-.014	.019	46.078	27	.012
28	-.014	.019	46.690	28	.015
29	.003	.019	46.722	29	.020
30	.021	.019	48.027	30	.020
31	.003	.019	48.059	31	.026
32	-.005	.019	48.150	32	.033
33	-.014	.019	48.766	33	.038
34	-.006	.019	48.858	34	.048
35	.003	.019	48.889	35	.060
36	-.014	.019	49.507	36	.066
37	.003	.019	49.538	37	.082
38	-.014	.019	50.157	38	.090
39	.012	.019	50.592	39	.101

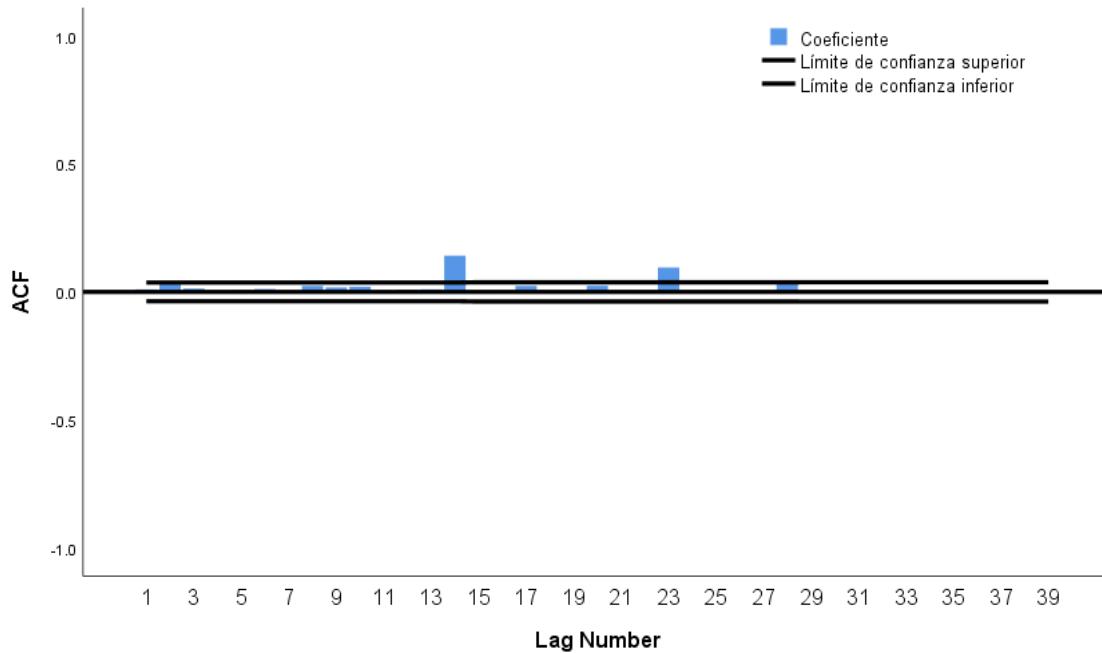
**Anexo 23.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de huevos de *Diaphorina citri* en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.



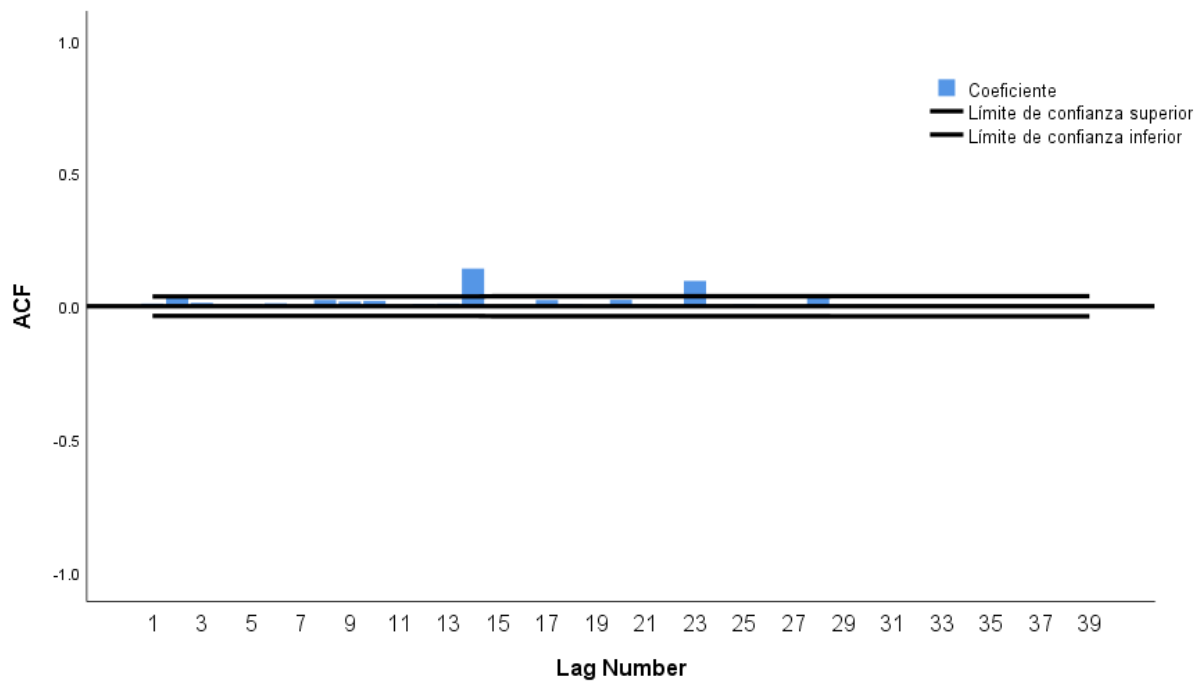
**Anexo 24.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.



**Anexo 25.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de ninfas de *Diaphorina citri* susceptibles de parasitismo en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.



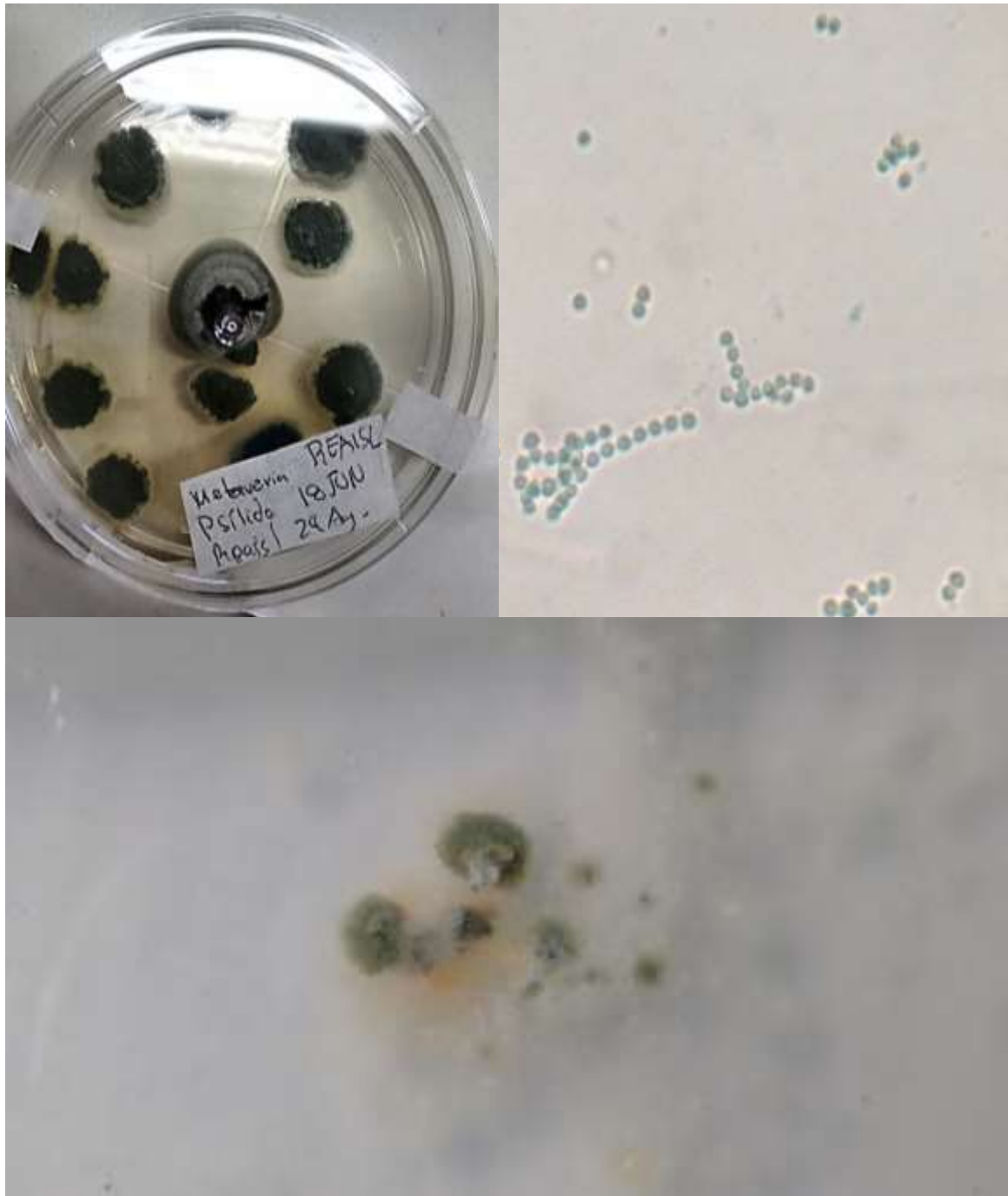
**Anexo 26.** Gráfico de autocorrelación de serie abundancia de adultos de *Diaphorina citri* en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.





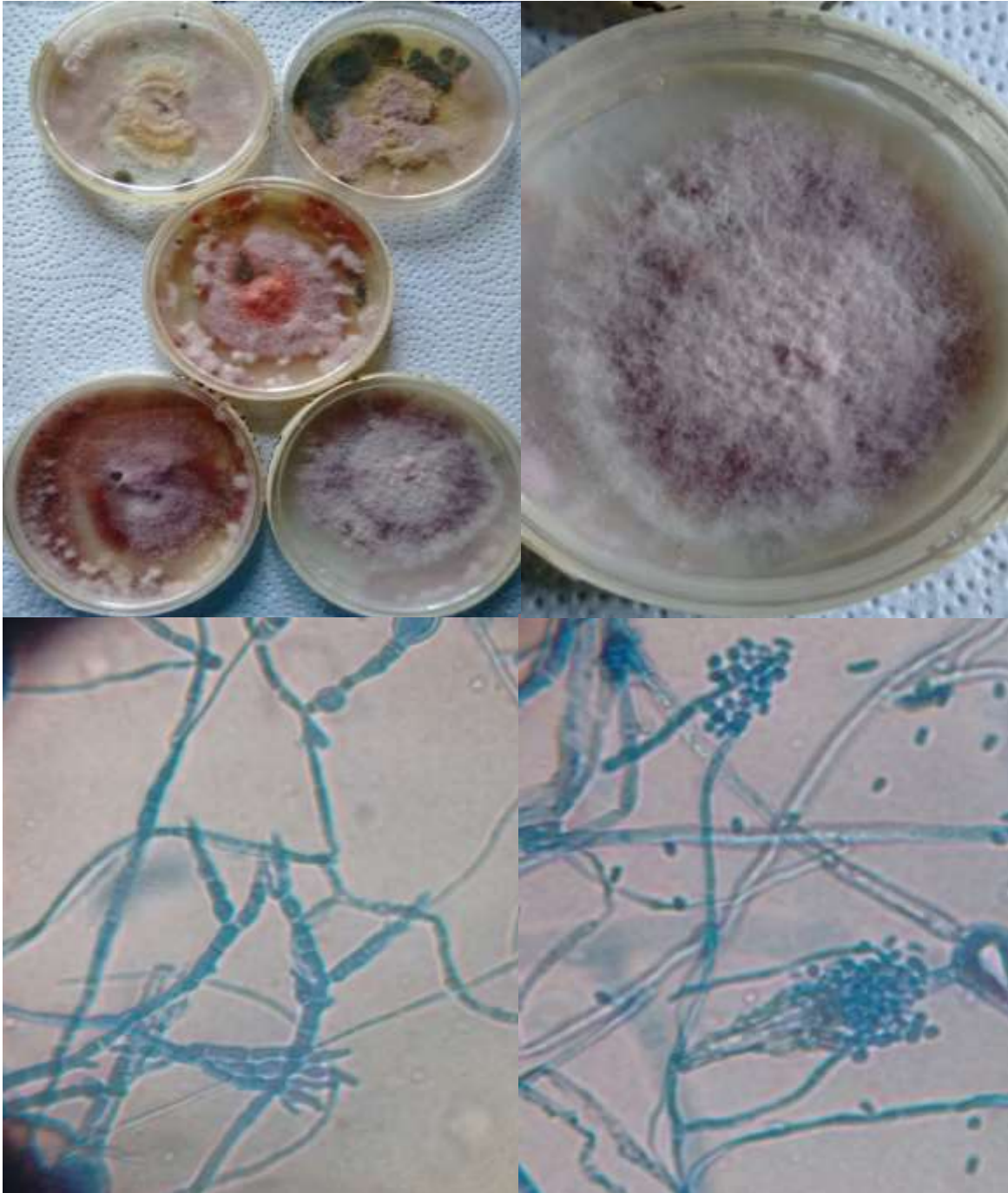
**Anexo 27.** *Metarrizhium anisopliae* aislado de psílicos adultos de la parcela MIP.

Los psílicos fueron colectados el 18 de junio de 2016, la aplicación del hongo en el campo se realizó el 8 de junio en la parcela con MIP.

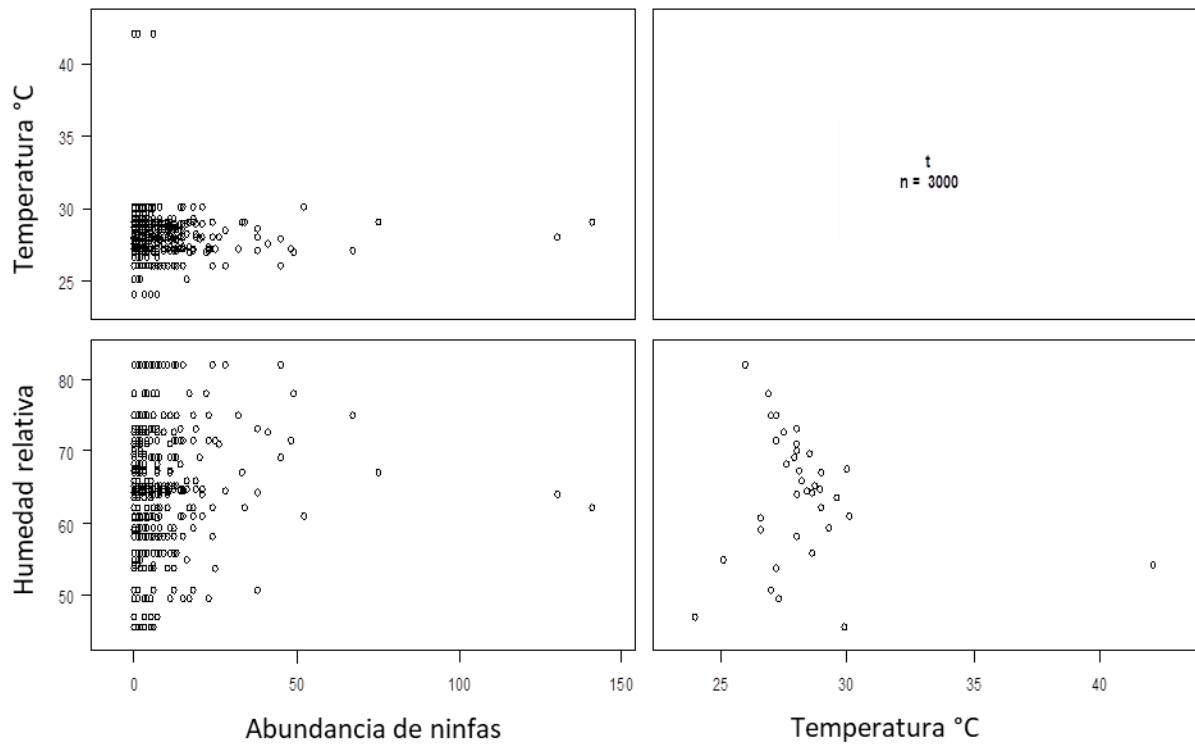


**Anexo 28.** *Paecilomyces lilacinus* aislado de psílidos adultos de la parcela MIP.

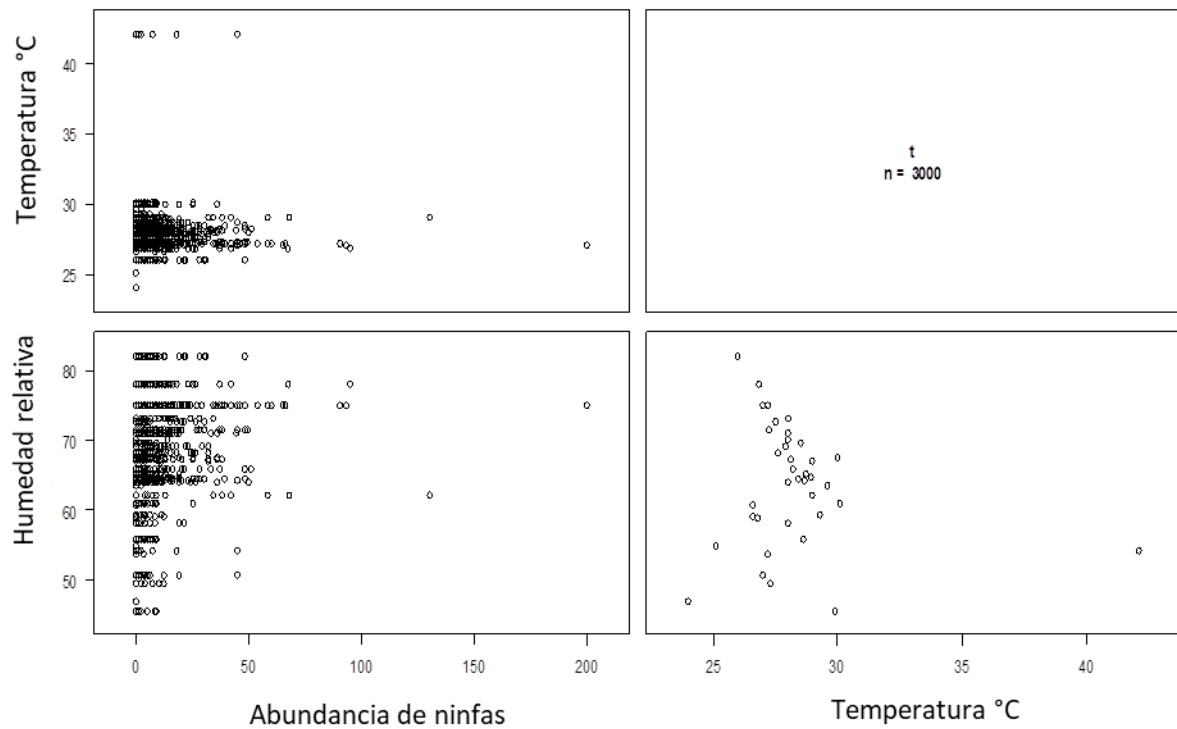
El aislamiento se realizó luego de la aplicación del hongo el 12 de agosto en la parcela con MIP. Los psílidos fueron colectados el 26 de agosto de 2016.



**Anexo 29.** Correlación de Spearman entre la abundancia de ninfas y las variables temperatura °C y humedad relativa en la parcela MIP.

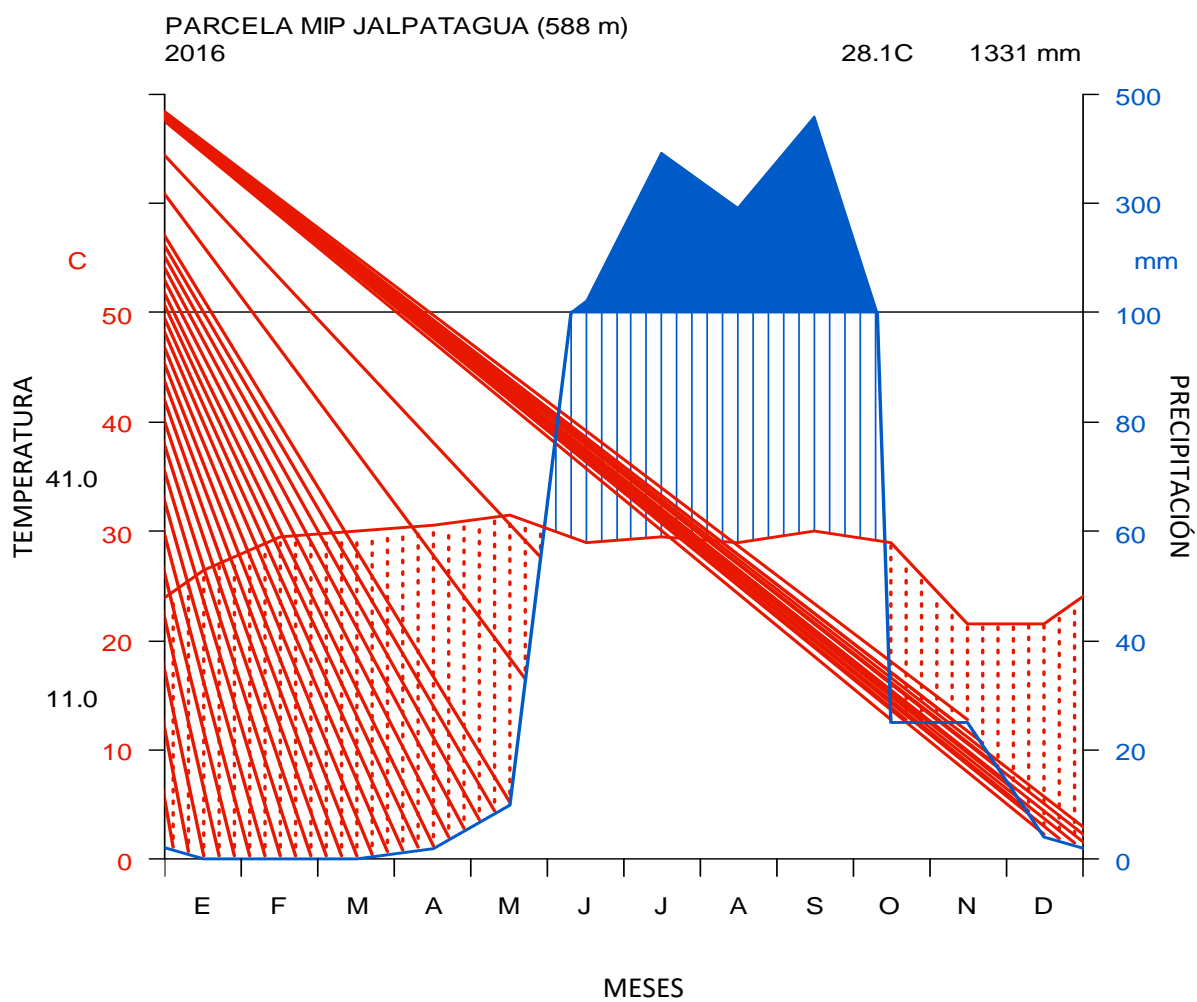


**Anexo 30.** Correlación de Spearman entre la abundancia de ninfas y las variables temperatura °C y humedad relativa en la parcela sin MIP.



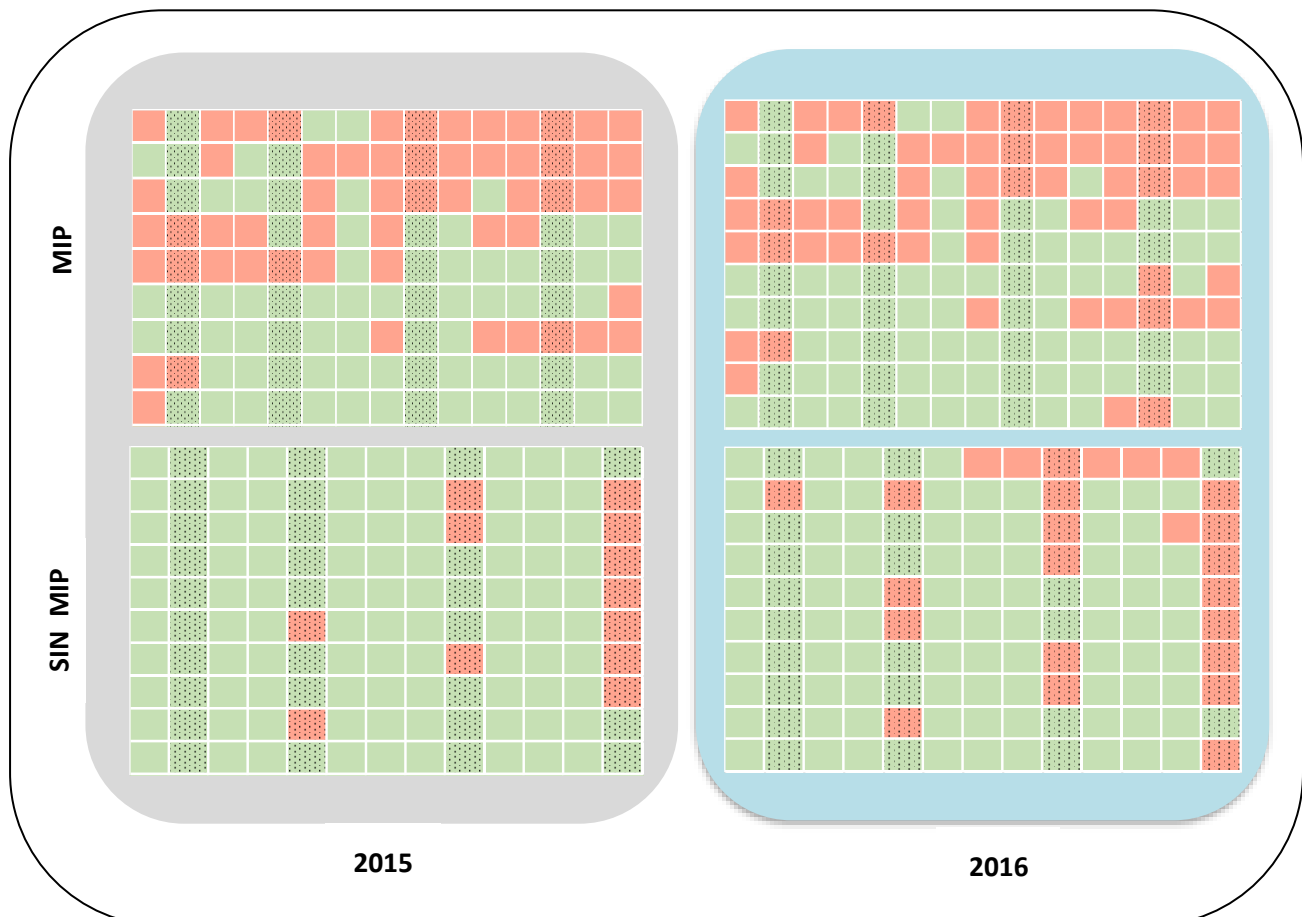
### Anexo 31. Climadiagrama del área de estudio

Pueden observarse los patrones climáticos registrados en las variables temperatura y precipitación durante 2016. Los meses más secos fueron enero, febrero y marzo. El inicio de las precipitaciones se registra el 18 de abril, lo cual contribuye a estimular el crecimiento de brotes en las plantaciones. La tendencia en los meses sucesivos continúa con incrementos en las precipitaciones. Durante los meses finales la precipitación se reduce considerablemente en octubre, hasta alcanzar 4 mm en diciembre. Durante el estudio la temperatura promedio registrada fue de 28.2 °C, la temperatura máxima promedio fue de 38.7°C y la temperatura mínima promedio fue de 21 °C.

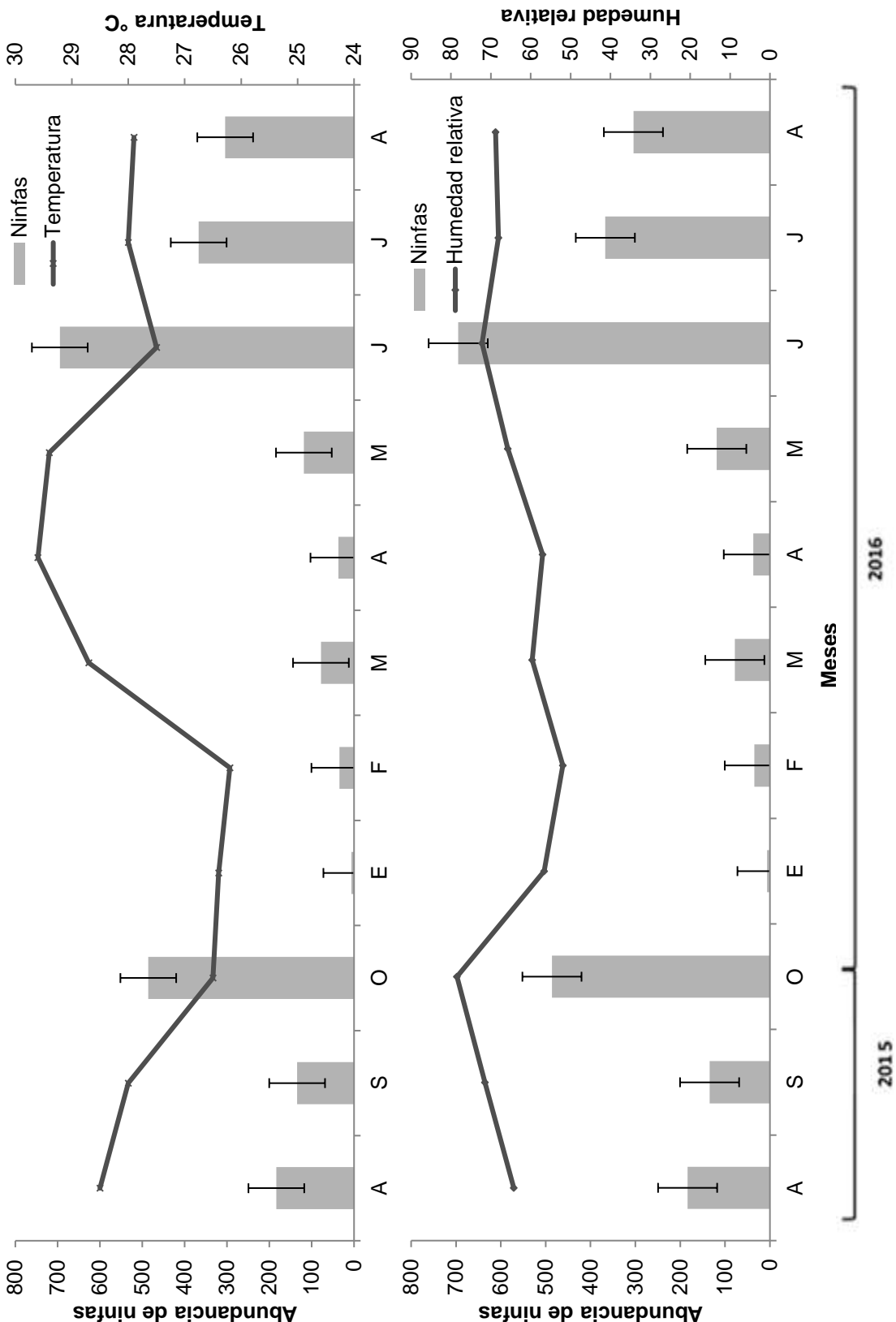


**Anexo 32.** Diagrama de infección de HLB en plantación de *Citrus aurantifolia* var. *tahiti* durante 2015 y 2016.

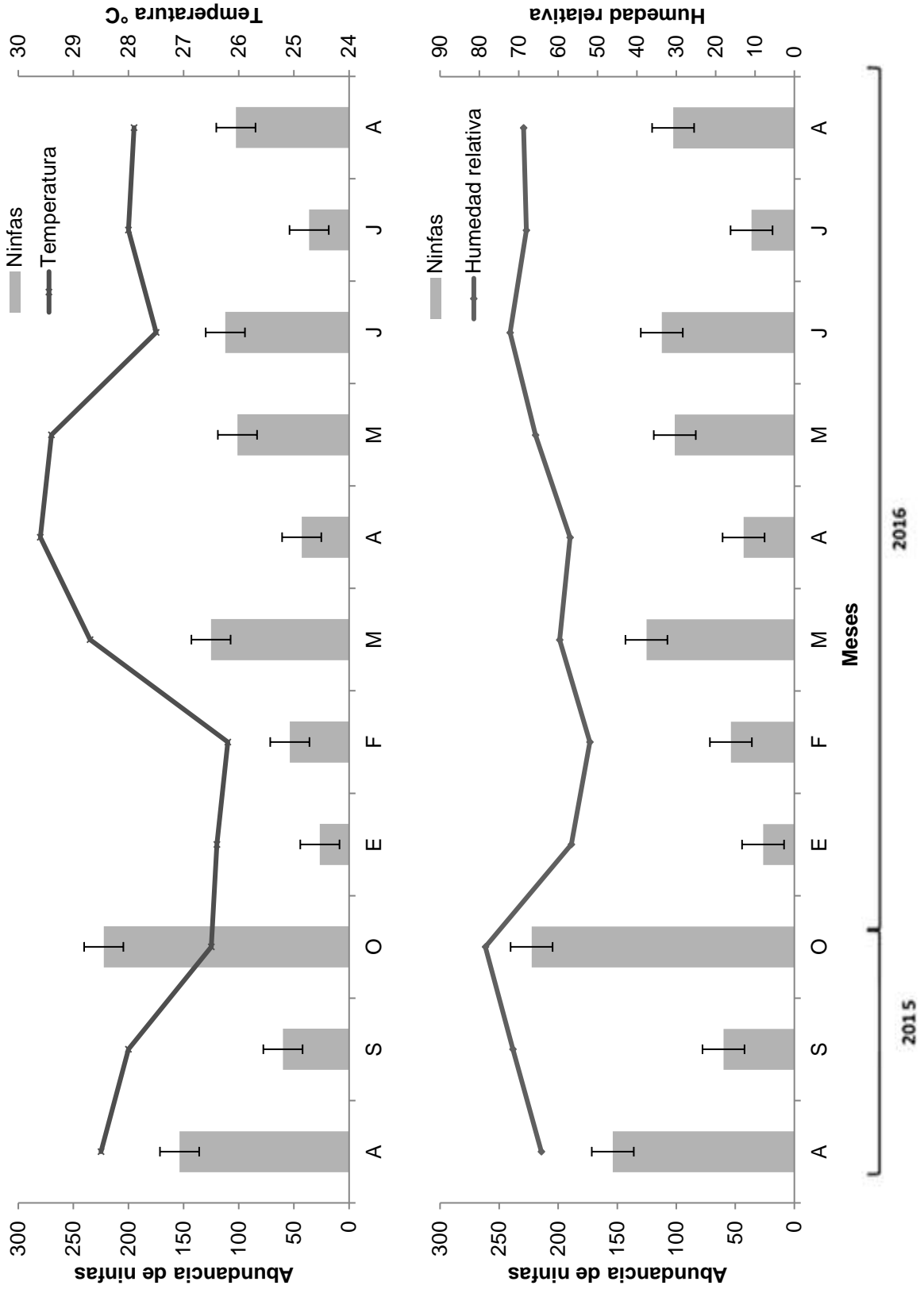
El diagrama representa la distribución de los surcos de árboles estudiados en ambas parcelas. Los surcos de monitorización se resaltan con puntuaciones. Los árboles infectados de HLB se representan en rojo. Los árboles sin síntomas de HLB se representan en verde. En 2015 se estableció que el 42% de la parcela MIP se encontraba infectada por HLB (n=57 árboles). En 2016 la infección abarcó el 44% de la parcela (n=60 árboles). La magnitud de la infección de HLB en la parcela sin MIP es sorprendentemente inferior. En 130 árboles de la parcela sin MIP el 9% está infectado (n=9 árboles) y en 2016 se observó infección por HLB en 19% (n=19 árboles). Esto resulta inesperado, debido a la aplicación de insecticidas biológicos dirigidos a erradicar al vector *D. citri*. Fuente: datos recopilados en conjunto con MAGA, 2016.



**Anexo 33.** Abundancia promedio de ninfas de *Diaphorina citri* y variables ambientales en parcela MIP durante 2015 y 2016.



**Anexo 34.** Abundancia promedio de ninfas de *Diaphorina citri* y variables ambientales en parcela sin MIP durante 2015 y 2016.





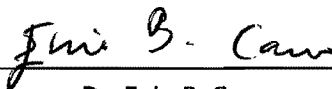
---

Ernesto Fernando Rivera Valverth  
Tesisista



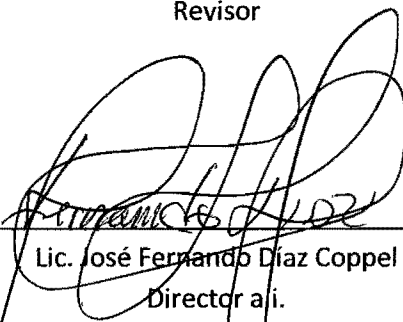
---

M.Sc. Leslie Melisa Ojeda Cabrera  
Asesora



---

Dr. Enio B. Cano  
Revisor



---

Lic. José Fernando Díaz Coppel  
Director a.i.



---

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda  
Decano