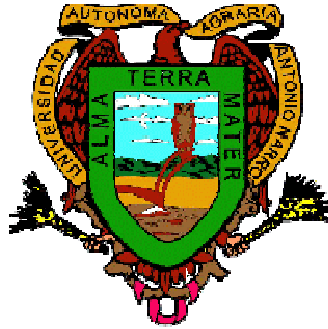


**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISION DE AGRONOMIA



**EVALUACIÓN DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS PARA EL CONTROL
DE *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) EN
CÍTRICOS**

Por:

EDUARDO ALCÁNTAR FERNANDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título

de:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

**Buenavista Saltillo Coahuila, México
Abril, 2009**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

EVALUACIÓN DE PRODUCTOS ALTERNATIVOS PARA EL
CONTROL DE *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:
Psyllidae) EN CÍTRICOS

Por:

EDUARDO ALCÁNTAR FERNÁNDEZ

TESIS

Que somete a consideración del jurado examinador como
requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTÍCULTURA

Aprobado por el comité de sinodales

Presidente

Dr. Reynaldo Alonso Velasco

Vocal

Dr. José Isabel López Arroyo

Vocal

Dr. Víctor Manuel Reyes Salas

Vocal

MC. Francisco Javier Valdés Oyervides

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
Coordinador de la División de Agronomía

Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo

Saltillo, Coahuila, México, Abril 2009.

División de Agronomía
Coordinación.

DEDICATORIA

A **Dios** por haberme dado la fortaleza necesaria para poder terminar una etapa más en mi vida.

A mis padres: **Eduardo Alcántar Cruz.**

Judith Teresa Fernández Ánimas.

PADRES La unión de dos personas, que tengo la dicha de contar con ellos, que me brindaron su confianza y apoyo, que me dieron toda su comprensión, cariño y respeto, que me obsequiaron una muestra del verdadero amor; estar ahí sin importunar, apoyar sin forzar, ofrecer energía espiritual sin obligar, interesarse en el sufrimiento del ser querido pero no intervenir en sus conclusiones de aprendizaje. Pero sobre todo haberme dado lo más valioso del mundo; la vida. Ellos que me dieron la mejor herencia que se puede tener, que pusieron delante de mí su ejemplo a seguir, ellos que a pesar de las caídas supieron levantarse, no encuentro las palabras para agradecerles y decirles que este triunfo es de ustedes, recompensa de todo su esfuerzo y dedicación. Espero no haberlos defraudado.

A mi hermano: **Erick Omar Alcántar Fernández.**

Muchas gracias manito por tus travesuras, por el amor y por estar conmigo siempre que te necesite, gracias por todo. Gracias por que al igual que nuestros padres hiciste muchos

esfuerzos para que pudiera concluir mis estudios profesionales. Que dios te bendiga. Te quiero mucho. Gracias.

A mi hermanito: **Marcial Alcántar Fernández.+**

Hermanito se que siempre me has acompañado en mi vida, es por ello que te doy mil gracias, dios te bendiga y te tenga en su gloria.

A mis abuelitos: **Mario Fernández Cobos**

Maria Ánimas Román

Muchas gracias por que siempre estuvieron al pendiente de mí durante el tiempo que duro mi carrera, gracias por que siempre me aconsejaron para bien, a ustedes va dedicado este logro en mi vida. Muchas gracias abuelitos.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por haberme dado fortaleza para poder pasar todos los obstáculos durante mi carrera, por haberme cuidado y por haber cuidado de mi familia, muchas gracias.

A **Don Antonio Narro**, quien con su voluntad hizo posible que se formara una escuela de Agricultura, que con su ejemplo, seguirnos capacitando día a día y obtener un empleo digno en el campo mexicano, con la finalidad de de contribuir al desarrollo del medio rural.

A **MI ALMA TERRA MATER**, gracias por haberme dado una formación profesional, gracias por todas las buenas y malas experiencias que tuve en tus aulas y fuera de ellas. Gracias.

Al **Ph. D. J. Isabel López Arroyo** por sus asesorías muy oportunas para la realización de este proyecto, por encontrar en el un amigo que siempre estuvo al pendiente de mi durante mi estancia en el campo de General Terán. Gracias.

Al **Dr. Reynaldo Alonso Velasco**, gracias por sus conocimientos, su amistad y alguien en quien podía confiar estando lejos de mi casa. Gracias.

Al **Campo Experimental de General Terán, Nuevo León**, donde se realizó la presente investigación, por facilitar los medios para la realización de este trabajo, gracias a todo el personal que labora en el.

Al **M.C. Víctor Sánchez**, profesor muy dedicado que me brindo su amistad y asesoría durante mi estancia en la UAAAN. Gracias.

Al **M.Sc. Humberto Macías** +, gracias maestro por que usted me brindo su amistad y algo muy importante, sus increíbles conocimientos. Descanse en paz. Gracias.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Contenido	Pág.
Dedicatorias	III
Agradecimientos	V
Índice de contenido	VII
Índice de cuadros y figuras	VIII
Introducción	1
Revisión de literatura	3
Huanglongbing (dragón amarillo de los cítricos)	3
Psílido asiático (<i>Diaphorina citri</i> kuwayama)	4
Control químico	12
Control biológico	13
Investigación de nuevos plaguicidas	14
Materiales y métodos	16
Cría de <i>diaphorina citri</i>	16
Bioensayo 1. Evaluación de extractos vegetales e insectos: semillas de papaya y hormigas rojas	18
Bioensayo 2. Evaluación de extractos de guayaba y aceite vegetal	22
Bioensayo 3. Evaluación de extractos de orégano	23
Resultados y discusión	26
Bioensayo 1. Evaluación de extractos vegetales e insectos: Semillas de papaya y hormigas rojas.	26
Bioensayo 2. Evaluación de extractos de guayaba y aceite vegetal.	27
Bioensayo 3. Evaluación de extractos de orégano (<i>Lippia graveolens</i> Kunth).	30
Conclusiones	35
Bibliografía	36

INDICE DE CUADROS y FIGURAS

Cuadro 1. Superficie sembrada de cítricos en México.

Cuadro 2. Mortalidad promedio de *Diaphorina citri* causada por diferentes tratamientos evaluados en los bioensayos.

Fig. 1. Etapas de crecimiento de *Diaphorina citri*

Fig. 2. Etapas de crecimiento de *Diaphorina citri*.

Fig. 3. *Murraya paniculata*. Hóspeder preferido de *D. citri*

Fig. 4. Hembra de *D. citri* adulta.

Fig. 5. Huevos de *D. citri*, depositados en una hoja de cítricos.

Fig. 6. Ninfa de *D. citri* y secreciones de mielecilla blanca excretadas por dicha ninfa

Fig. 7. Diferentes estadios ninfales de *D. citri*

Fig. 8. Adultos de *D. citri* posando sobre una hoja de naranjo

Fig. 9. Adulto Macho de *D. citri*

Fig. 10. *Tamarixia radiata* (Waterston), parasitoide de *D. citri*.

Fig. 11. *Olla v-nigrum* (Mulsant), depredador de *D. citri*

Fig. 12. Plantas de naranja agria (*Citrus aurantium*) de donde se colectaba *D. citri*.

Fig. 13. Plantas de naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata*) donde se colectaba *D. citri*.

Fig. 14. Cámaras de cría ubicadas en el laboratorio de control biológico del Campo Experimental Gral. Terán, N.L.

Fig. 15. plántulas de Mandarina cleopatra (*Citrus reshni* Hort).

Fig. 16. Recipiente de plástico para la colocación de plántulas de mandarina Cleopatra.

Fig. 17. Plántulas de Mandarina cleopatra (*Citrus reshni* Hort) depositadas en los recipientes de plástico.

Fig. 18. Hormigas recolectadas

Fig. 19. Preparación del extracto.

Fig. 20. Extracción de semillas de papaya.

Fig. 21. Cámara de incubación con temperatura regulada a 26° C y fotoperíodo 16:8 hrs. de luz: oscuridad

Fig. 22. Cámara de incubación con las arenas experimentales del bioensayo.

Fig. 23. Plantas de guayaba mantenidas en el Campo Experimental Gral. Terán, N.L., para la obtención de follaje para evaluaciones experimentales.

Fig. 24. Pesado del orégano.

Fig. 25. Preparación de la infusión.

Fig. 26. Mortalidad de adultos de *Diaphorina citri* causada por extractos de hormiga roja y papaya y aplicados en aspersión directa al insecto o a la planta en los cuales las aplicaciones se realizaron directamente al insecto. Tratamientos: 1. Extracto de hormiga (*Solenopsis* sp., Hymenoptera: Formicidae) aplicado al insecto. 2. Extracto de hormiga aplicada a la planta. 3. Extracto de semillas de papaya aplicada al insecto. 4. Extracto de semillas de papaya aplicada a la planta. 5. Agua aplicada al insecto (Testigo 1). 6. Agua aplicada a la planta (Testigo 2).

Fig. 27. Mortalidad promedio de *Diaphorina citri* causada por compuestos contenidos en hojas de guayaba y aceite vegetal de soya. Tratamientos: 1. Aceite de soya marca Nutrioli + adherente aplicado al adulto. 2. Aceite de soya marca Nutrioli + adherente aplicado a la planta. 3. Extracto de follaje de guayaba aplicado al adulto. 4. Extracto de follaje de guayaba molido aplicado a la planta. 5. Infusión de follaje de guayaba aplicado al adulto. 6. Infusión de follaje de guayaba aplicado a la planta. 7. Agua aplicada al adulto (Testigo 1). 8. Agua aplicada a la planta (Testigo 2).

Fig. 28. Mortalidad promedio de *Diaphorina citri* causada por compuestos contenidos en hojas de orégano. Tratamientos: 1. Solución madre de orégano licuado con agua purificada aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 2. Infusión madre de orégano aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 3. Infusión madre de orégano aplicada directamente plantas. 4. Dilución 1:1 de la solución madre de infusión con agua purificada y aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 5. Dilución 1:10 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 6. Dilución 1:100 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 7. Dilución 1:1000 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 8. Aspersión de agua directamente sobre los adultos de *D. citri* (Testigo 1). 9. Aspersión de agua directamente sobre el follaje de las plántulas (Testigo 2).

INTRODUCCION

La citricultura de México representa la actividad frutícola de mayor importancia socioeconómica en el país, ya que se encuentra establecida en 526,000 hectáreas, distribuidas en 23 Entidades Federativas, lo que representa una producción de 6.7 millones de toneladas anuales, con un valor de 8,050 millones de pesos (SIAP, 2006), en beneficio de 67 mil productores; esta actividad genera 70 mil empleos directos y alrededor de 250 mil indirectos (Dirección General de Fomento a la Agricultura, 2007).

Cuadro 1. Superficie sembrada de cítricos en México.

Hectáreas sembradas con cítricos en México						
ESTADO	Limón	Mandarina	Naranja	Tangerina	Toronja	Total
Veracruz	25802	7596	151373	12679	7206	204655
San Luís Potosí	2217	2583	45496	90	189	50576
Michoacán	37434	10	436		4235	42115
Tamaulipas	3317	723	35191		1398	40629
Nuevo León	2	3475	25,688		1552	30716
Colima	30350		309	7	11	30677
Tabasco	8321	112	17513		484	26430
Oaxaca	17310	8	5466		226	23010
Puebla	3599	34	16962	1415	603	22613
Yucatán	3920	619	16382		437	21358
Hidalgo	483	49	8657			9189
Sonora	39	16	7958		624	8637
Otros	13035	322	17127	18	1243	31745
TOTAL	145829	15547	348558	14209	18207	542350

Fuente: SIACON 2004

El psílido asiático de los cítricos llamado comúnmente en México “Diaforina”, cuyo nombre técnico es *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), está ampliamente

distribuido en las regiones tropicales y subtropicales del país. Este insecto se desarrolla exclusivamente en plantas de la familia Rutaceae, particularmente del género *Citrus* y *Murraya*. El daño directo es causado por ninfas y adultos al extraer grandes cantidades de savia en las hojas y pecíolos, lo cual debilita las plantas. *Diaphorina citri* es el principal vector de la enfermedad llamada Huanglongbing; causada por una bacteria que habita el floema, que puede infectar a todas las variedades de cítricos y algunas plantas ornamentales de la familia Rutaceae, fue detectada en los Estados Unidos en agosto del 2005 en el condado de Miami–Dade, Florida.

El presente estudio está orientado a la evaluación de productos alternativos para el control de *Diaphorina citri*. La búsqueda de sustancias naturales que permitan desarrollar nuevas estrategias para controlar y eliminar plagas insectiles es necesaria debido al aumento en la resistencia desarrollada por éstas a los insecticidas sintéticos y el problema que generan por ser contaminantes y no biodegradables. Por esta razón se realiza la búsqueda de productos naturales que constituyan una alternativa eficaz para el control de *Diaphorina citri*, que garanticen la calidad y productividad de los cítricos en el país, que carezcan de riesgo alguno para la salud humana o animal, y que no contribuyan a la degradación del medio ambiente por la acumulación de sus residuos.

Palabras clave

Diaphorina citri, Huanglongbing, cítricos, productos alternativos, guayaba, bioensayos.

REVISION DE LITERATURA

La citricultura en México, es seriamente amenazada por diversas enfermedades vasculares ocasionadas por virus, viroides, bacterias, etc., una amenaza potencial lo constituye la bacteria restringida al floema *Candidatus Liberibacter spp.*, causante del “Huanglongbing” o dragón amarillo de los cítricos. La amenaza potencial del “Huanglongbing” lo constituye la presencia de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), conocido comúnmente como el psílido asiático de los cítricos. Este insecto es el principal vector de la bacteria causante del “Huanglongbing”, el primer informe formal de la presencia de la plaga en el país fue realizado por el Dr. D.B. Thomas (USDA-ARS) al encontrar al insecto en los cítricos del estado de Campeche, en marzo de 2002 (Thomas, 2002; López Arroyo *et al.*, 2002, 2005).

Huanglongbing (Dragón amarillo de los cítricos)

El “Huanglongbing” (huanglongbing en Mandarín significa dragón amarillo, y hace referencia a la apariencia que presentan las plantas enfermas) es una de las enfermedades más graves que afectan a la citricultura mundial, incluso mayor a la Tristeza de los Cítricos (da Graca, 1991; da Graca y Korsten, 2004; Halbert, 1999; Halbert y Manjunath, 2004). *Diaphorina citri* en infestaciones fuertes puede matar los brotes vegetativos en desarrollo o causar la abscisión de hojas (Michaud, 2004). Hasta el momento no existe variedad o portainjerto resistente a la enfermedad. Hasta el año 2004, el huanglongbing (antes “greening”) se encontraba restringido a los Continentes Asiático y Africano; sin embargo,

en febrero del 2004 se detectó en Brasil, estado de San Pablo y en julio de ese año, FUNDECITRUS informó del mismo a productores del Estado de San Pablo. En noviembre del 2004, en la XVI Conferencia de la IOCV (International Organization of Citrus Virologists) desarrollada en México, Brasil informó oficialmente de la aparición de esta enfermedad y de su difusión en forma rápida entre las quintas del Estado de San Pablo. En agosto del 2005, la enfermedad es detectada en los Estados Unidos de América en el condado de Miami–Dade, FL. (Knighten *et al.*, 2005; Cheng y Brlansky, 2006; Zhou *et al.*, 2007), siete años después de la invasión de la citricultura de Florida por el vector *D. citri* (Halbert, 1999; Halbert y Manjunath, 2004). Hasta el momento presente no existen informes de la presencia del huanglongbing en México; sin embargo, constituye una amenaza potencial cuyo riesgo se incrementa en caso de que sea introducido (Halbert y Manjunath, 2004), debido a que el vector se encuentra ampliamente distribuido en el país (López-Arroyo *et al.*, 2005).

Psílido Asiático (*Diaphorina citri* Kuwayama).

El huanglongbing se transmite por propagación vegetativa y por insectos vectores. El principal vector de la bacteria que ocasiona la enfermedad es el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama. Este insecto fue descrito por primera vez en Taiwán en 1907 (Halbert y Manjunath, 2004); actualmente es un insecto plaga con categoría cuarentenaria (OEPP/EPPO, 1988) y es de particular importancia porque está establecido ampliamente en las zonas citrícolas del mundo (Wooler *et al.*, 1974; CABI/EPPO, 2001; EPPO/CABI, 2005). En el Continente Americano está establecido en Sud y Centro América

(Cermeli *et al.*, 2000; Halbert y Núñez, 2004; Villalobos *et al.*, 2004); hasta 1994 su dispersión llegaba hasta Honduras (Burckhardt, 1994), y posiblemente invadió México antes de 1996 (Halbert y Núñez, 2004). El insecto fue encontrado en la citricultura de Florida en 1998, en la citricultura del Valle de Río Grande, Texas en 2001 (Halbert y Manjunath, 2004; Halbert y Núñez, 2004), y en México durante 2002 en las huertas de cítricos de Campeche (Thomas, 2002; López Arroyo *et al.*, 2002, 2005). En el año 2003, *D. citri* fue registrada simultáneamente en los estados de Nuevo León y Tamaulipas (López Arroyo *et al.*, 2002, 2004, 2005; Ruiz *et al.*, 2005); en el año 2004 la plaga se había extendido a los estados de Colima, Querétaro, San Luís Potosí, Tabasco y Yucatán (López Arroyo *et al.*, 2005). Durante 2006, el insecto fue encontrado en los estados de Michoacán, Oaxaca, Sinaloa, y Sonora. En 2007 fue localizado en Baja California Sur, así como en el estado de Morelos. En 2008 finalizó la invasión de la citricultura Mexicana con la colecta de *D. citri* en Tijuana, B.C. (www.sagarpa.senasica.gob.mx). Durante el mes de julio fue localizado en árboles de cítricos de traspatio en el estado de Coahuila (Comarca Lagunera), fuera de cualquier zona citrícola del país y en áreas con presencia de una escasa cantidad de árboles de cítricos (observaciones sin publicar de J.I. López-Arroyo).

Además de ser el principal vector de la bacteria que ocasiona el huanglongbing, el psílido asiático al alimentarse de la planta es capaz de provocar defoliación y muerte del follaje; causar daños severos en los retoños (brotes), reducción en el tamaño de la fruta, deformación de las frutas, aborto de semilla y escasez de jugo. Poblaciones altas de este insecto originan abundantes secreciones de mielecilla que favorece la presencia y

desarrollo del hongo de la fumagina, la cual afecta el vigor de los árboles al interferir el proceso de la fotosíntesis (Halbert y Manjunath, 2004).

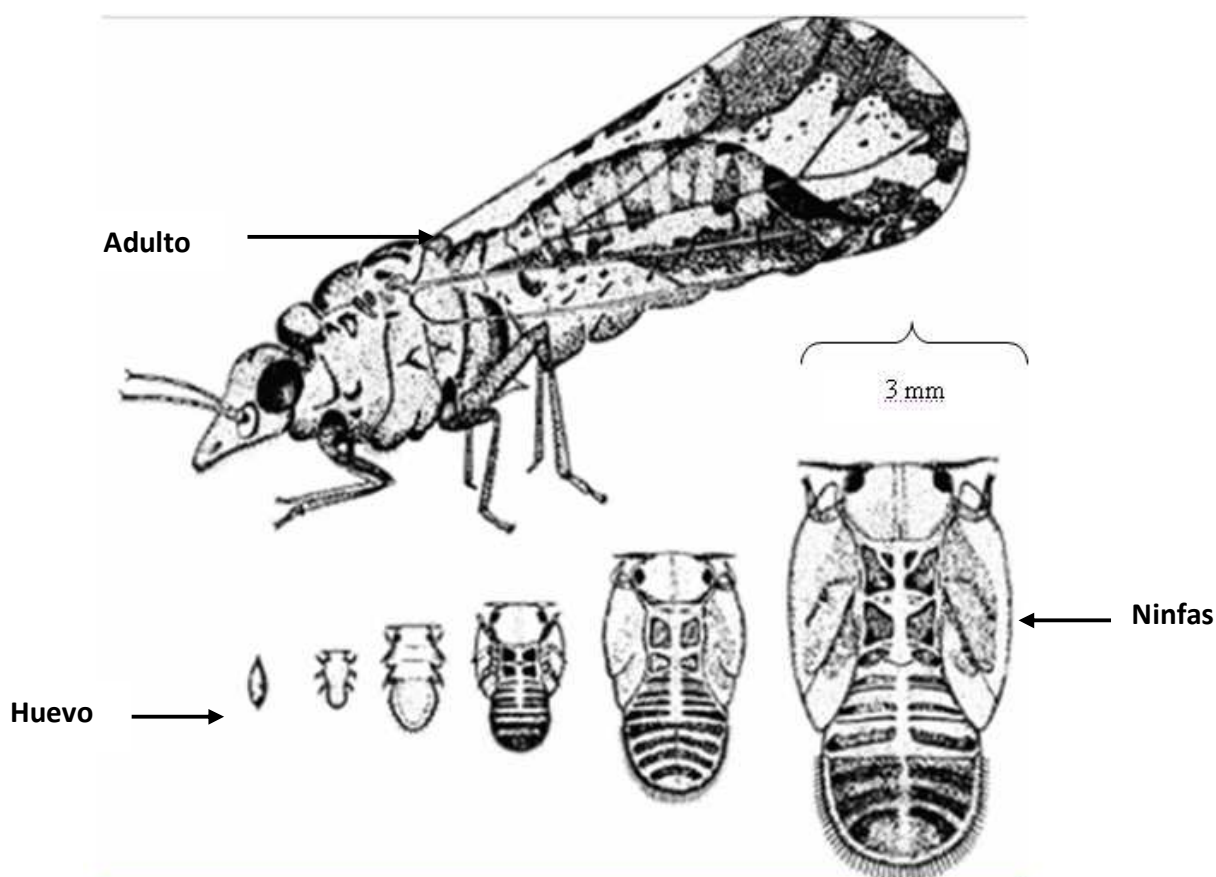


Fig. 1. Etapas de crecimiento de *Diaphorina citri*.

Este psílido pueden adquirir el patógeno después de un corto período de alimentación, 15 a 30 minutos (100% de seguridad al haber transcurrido una hora o más) y son portadores de la bacteria durante toda su vida (3 a 4 meses); el patógeno se multiplica en el insecto (Aubert, 1987). Los adultos y las ninfas de cuarto y quinto instar son capaces

de transmitir el patógeno después de 8-12 días (Roistacher, 1991). No se ha probado la transmisión transovárica.

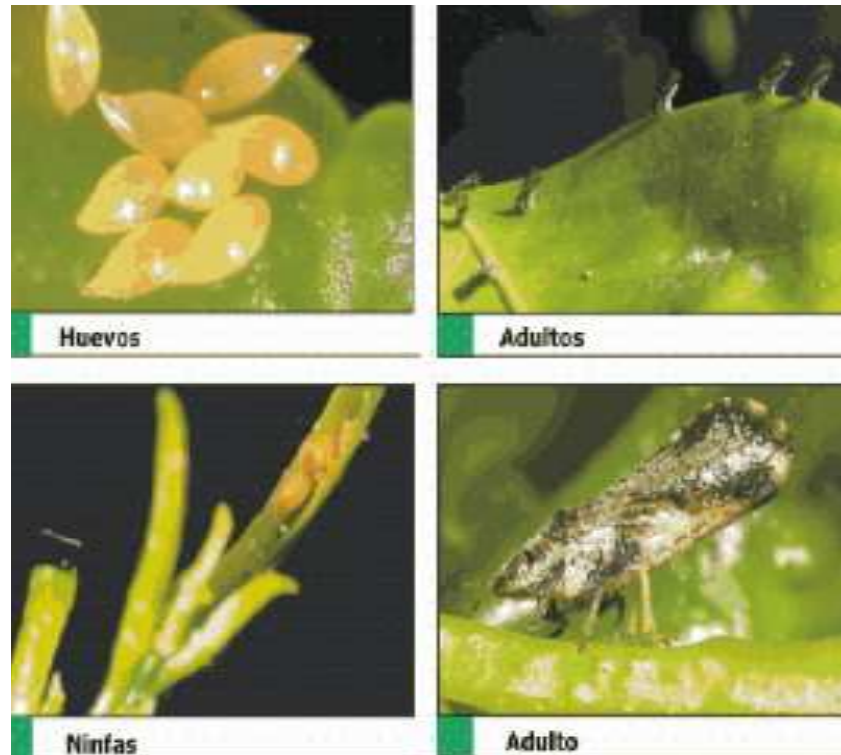


Fig. 2. Etapas de crecimiento de *Diaphorina citri*.

El rango de huéspedes de *D. citri* está reducido a cítricos y especies cercanas de la familia Rutaceae. Dentro de los cítricos destacan el limón, lima, y toronja, ya que estas plantas están constantemente produciendo brotes nuevos; la planta ornamental *Murraya paniculata* es el huésped preferido de *D. citri* (EPO/CABI, 2005). Los adultos de *D. citri* son saltadores activos; al alimentarse de las hojas o brotes, característicamente guardan un ángulo de 30° respecto a la superficie de las hojas. Los huevos son amarillo brillante y son depositados en los brotes tiernos. Las ninfas son verdes o anaranjado opaco; se alimentan

en hojas y tallos nuevos; por lo que durante esta época se dan incrementos poblacionales durante los periodos de crecimiento vegetativo de la planta (Halbert y Manjunath, 2004).

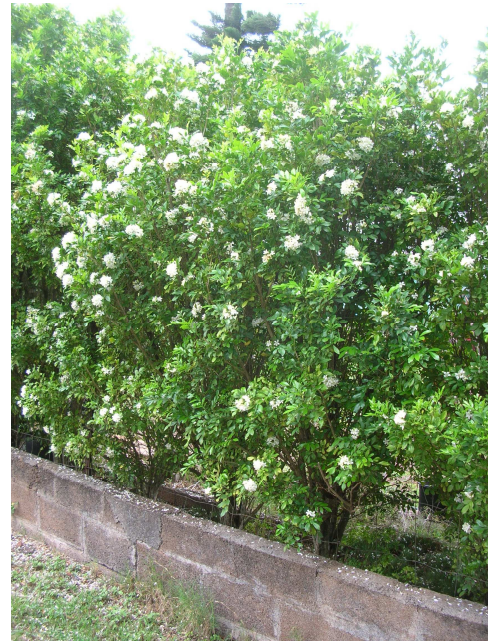


Fig. 3. *Murraya paniculata*. Hospedero preferido de *D. citri*

Otra característica de *Diaphorina citri* es que puede alimentarse en ramas (follaje) maduro mientras llega la época de brotación en los cítricos, esto quiere decir que puede sobrevivir sin ningún problema durante todo el año. Aunque en esta etapa las poblaciones se reducen.

La hembra es capaz de llegar a poner hasta 800 huevos durante su vida. Los huevos son de 0.3 mm de longitud, de amarillos a anaranjados y alargados, son depositados en las hojas de brotes muy tiernos. (Knapp et al., 2006).



Fig. 4. Hembra de *D. citri* adulta.

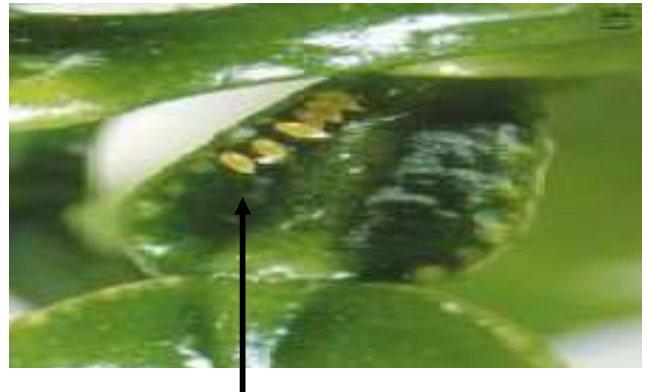


Fig. 5. Huevos de *D. citri*, depositados en una hoja de cítricos

De los huevos emergen las ninfas de color amarillo verde que producen secreciones de cera. Presenta cinco instares ninfales; el



primer instar mide 0.25 mm de longitud y el

último de 1.5 a 1.7 mm. (Anónimo).

Fig. 6. Ninfa de *D. citri* y secreciones de mielecilla blanca excretadas por dicha ninfa

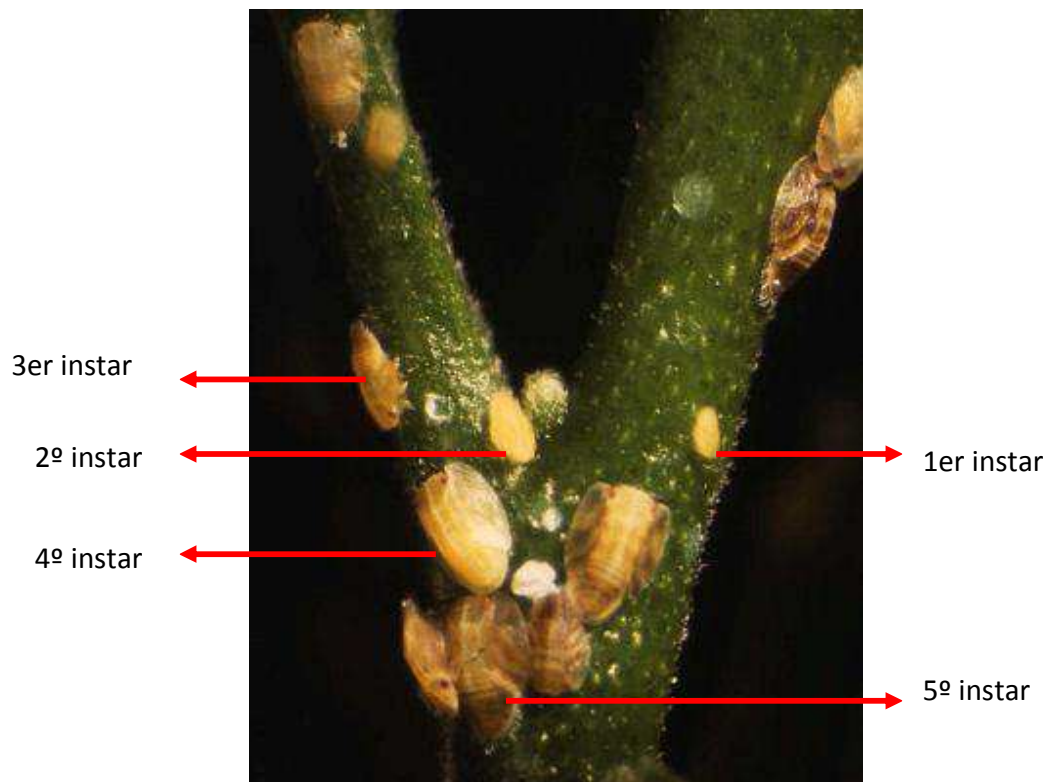


Fig. 7. Diferentes estadios ninfales de *D. citri*

De las ninfas emergen los adultos de color café moteado, miden de 3 a 4 milímetros de largo. La ninfa y el adulto se alimentan de la savia de brotes nuevos. El ciclo de vida de la *diaphorina* es de 15 a 47 días y pueden llegar a tener más de 30 generaciones traslapadas por año (Hoy *et al.*, 1998).



Fig. 8. Adultos de *D. citri* posando sobre una hoja de naranjo



Fig. 9. Adulto Macho de *D. citri*

Las mayores densidades de población son en los meses secos (brotación del mes de mayo), disminuyendo en los meses de mayor precipitación (Anónimo). Las características ideales para el desarrollo de *Diaphorina citri* son temperaturas altas de más de 30°C, y su pico poblacional tiene relación directa con la disponibilidad de brotes tiernos con lo que su aparición puede coincidir con la del minador de los cítricos (Rural, La Gaceta. (s/a).)

El psílido asiático de los cítricos presenta un ciclo de vida corto y una alta capacidad de reproducción, especialmente en áreas costeras tropicales (Catling, 1970). Estudios realizados por Tsai y Liu (2000) indican que la mayor cantidad de huevos se presentaron en toronja. El ciclo de vida comprende las etapas de huevo, cinco instares ninfales y adulto; a temperatura de 24°C los huevos eclosionan entre 4.1 y 4.3 días, y sus cinco instares pueden tener una duración de 12.6 a 13.5 días, de acuerdo al hospedero que utilicen (Tsai y Liu, 2000). Las ninfas excretan un tipo de mielecilla que favorecen el

desarrollo de hongos causantes de fumagina y provoca además la presencia de hormigas, las cuales defienden a *D. citri* de sus enemigos naturales, debido a que dichas hormigas se alimentan de la mielecilla excretada por el insecto plaga (CABI, 2005). *D. citri* característicamente también excreta una especie de pequeños gránulos de cera, parecidos a granos de sal; en ocasiones se llegan a observar como filamentos largos que salen del extremo abdominal (Halbert, 1999; Halbert y Manjunath, 2004). Los adultos de *D. citri* frecuentemente se encuentran en reposo en la porción terminal de las ramas o brotes de las plantas, especialmente en el envés de las hojas. Cuando los adultos son molestados saltan una corta distancia y se posan de nuevo en las hojas. Las hembras sólo ovipositan en ramas tiernas y en la ausencia de éstas, cesan la oviposición temporalmente. La mayor longevidad de las hembras criadas en toronja es de 54 días a temperatura de 25°C. (Tsai y Liu, 2000).

Control químico

Diaphorina citri puede ser controlado eficientemente con insecticidas químicos; sin embargo, este método a largo plazo trae como consecuencia la aparición de plagas secundarias, al tener que hacer varias aplicaciones de estos productos por año (Mead, 1977). En Brasil, los insecticidas que han ejercido un buen control sobre *D. citri* son productos sistémicos en períodos de lluvia y de movimiento de savia como es el Aldicarb y el Imidacloprid, entre otros. Los productos de contacto son utilizados en períodos de sequía y principalmente son: Dimetoato, Ethión, Malathión, Piretroides, Carbamatos y Abamectina. (Cobelo, 2005).

Imidacloprid (Confidor 35 SC, 0.5 por mil) controló el 100% de los adultos y 98% de las ninfas. (Cáceres, S., 2002).

Control biológico

En las Islas Reunión, *D. citri* fue controlado eficientemente con la introducción desde la India del parasitoide específico, *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), igualmente esta especie fue introducida a la Isla de Guadalupe, donde controló exitosamente las poblaciones de la plaga (Etienne *et al.*, 1998; da Graca y Korsten, 2004). En Florida, E.U.A., se desarrolló un programa de control biológico clásico de *D. citri* basado en la introducción y liberación de los parasitoides *T. radiata* y *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam & Agarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae) (Hoy *et al.*, 1999; McFarland and Hoy, 2001); además, en las plantaciones se han observado densidades altas del depredador *Olla v-nigrum* (Mulsant) (Coleóptera: Coccinellidae) en los árboles atacados por la plaga, por lo que se ha considerado a éste como un factor clave en el control de *D. citri* (Michaud, 2001, 2004). El insecto es además atacado por diversas especies de depredadores generalistas comúnmente asociados a los cítricos (González *et al.*, 2000a, b; López-Arroyo, 2001; López-Arroyo *et al.*, 2003; López-Arroyo *et al.*, 2005) y en México es también atacado por parasitoides nativos (Coronado *et al.*, 2003).

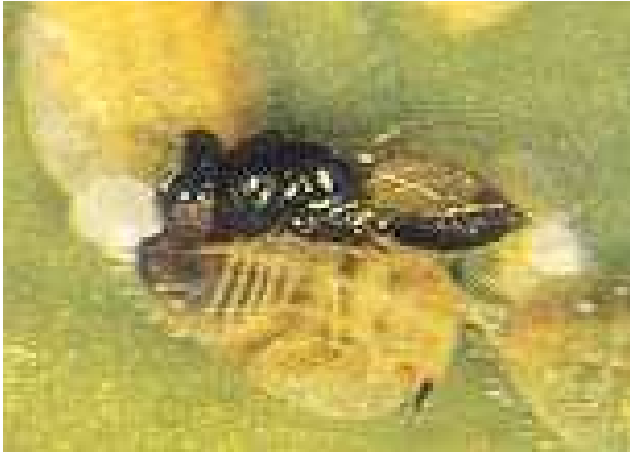


Fig. 10. *Tamarixia radiata* (Waterston), parasitoide de *D. citri*.



Fig. 11. *Olla v-nigrum* (Mulsant), depredador de *D. citri*

Investigación de nuevos plaguicidas

La búsqueda de sustancias naturales que permitan desarrollar nuevas estrategias para controlar y eliminar insectos es necesaria debido al aumento en la resistencia desarrollada por estos a los insecticidas químicos sintéticos y el problema que generan por ser no biodegradables y contaminantes. La mayoría de las plagas en los cultivos es controlada biológicamente a través de la actividad de aves, enfermedades, otros microorganismos, etc. El control natural de las plagas, no sólo reduce el uso de productos químicos sintéticos y protege la salud de las personas, sino que también permite reducir los costos de producción de los cultivos (Batish et. al., 2008).

Sin lugar a dudas los fitoinsecticidas o insecticidas orgánicos constituyen una muy interesante alternativa de control de insectos además de que sólo se han evaluado una mínima parte de las 250,000 que existen en el planeta por lo que las perspectivas futuras

son aun insospechadas (Lagunes, 1994). De hecho existen plantas como el neem (*Azadirachta indica* Juss) que ha mostrado tener excelentes resultados encontrándose en el mercado formulaciones comerciales. Uno de los métodos claves en la investigación de nuevos plaguicidas botánicos son los bioensayos. Estos bioensayos se emplean para estudiar las propiedades biocidas de las diferentes partes de las plantas como; raíces, corteza, hojas, frutos, flores, etc., la eficacia de los diferentes extractos y formulaciones, y para determinar el modo de acción de los ingredientes activos. Los bioensayos deben ser altamente sensitivos a las sustancias bioactivas, fáciles de manipular, baratos, de amplio espectro, y dar rápidos resultados (Banki, 1978).

MATERIALES Y METODOS

Cría de *Diaphorina citri*.

El estudio se realizó en el Campo Experimental Gral. Terán, N.L., México (N 25°18', W 99°35', 265 msnm). Se colectaron adultos de *Diaphorina citri* que se posaban sobre brotes tiernos u hojas maduras de plantas de naranjo agrio (*Citrus aurantium*) y de naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata*) que se encuentran sembrados en camas de germinación ubicadas en el Campo Experimental General Terán, N.L. del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Para la colecta se utilizó una aspiradora bucal, la cual es un recipiente de plástico transparente con dos mangueras enclavadas en la tapa, una manguera para que el operador aspire y otra para apuntar y atrapar al insecto. Las colectas se realizaron durante el mes de agosto-septiembre del 2008. Los insectos colectados se depositaban en recipientes de plástico transparente en grupos de 10 insectos adultos; posteriormente se liberaban en partes iguales en cajas de reproducción dentro del mismo campo experimental.

Las cajas de reproducción de *Diaphorina citri* se construyeron con las siguientes medidas 48x48x60 cm. y 60x65x160 cm., y fueron elaboradas con madera para darle forma y sostén, malla antiafidos para evitar que entraran agentes extraños o que escaparan los adultos; se realizaron dos ventanas donde se removió la malla y se colocó una hoja de acetato que se pegó con silicón; también se adhirió una manga hecha de tela de pabellón para poder introducir los insectos o poder introducir la manguera de la aspiradora bucal. Se mantuvieron en un cuarto con condiciones controladas, a una

temperatura de 26°C con luz artificial durante 16 hrs., cada caja contenía dos plantas de naranjo agrio de una edad aproximada de 16-20 meses, las cuales contaban con brotes tiernos donde los adultos podían alimentarse y ovipositar los huevos para seguir reproduciéndose. Cuando maduraban los brotes tiernos de las plantas, los insectos se colectaban de nuevo y se realizaba el cambio de éstas por plantas que contaran con brotes tiernos.



Fig. 12. Plantas de naranjo agrio (*Citrus aurantium*) de donde se colectaba *Diaphorina citri*.



Fig. 13. Plantas de naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata*) donde se colectaba *Diaphorina citri*.



Fig. 14. Cámaras de cría ubicadas en el laboratorio de control biológico del Campo Experimental Gral. Terán, N.L.

Bioensayo 1. Evaluación de extractos vegetales e insectos: Semillas de papaya y hormigas rojas.

Para integrar la arena experimental se utilizaron plántulas de Mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort) sembradas en vasos de unicel, con el uso del sustrato Sunshine Peat Moos, al ras del vaso se cubrió con papel destraza para evitar que existiera contacto entre el insecto y el suelo. Cada maceta se introdujo en un recipiente de plástico con capacidad de un litro, de los denominados dulceros, al cual se le efectuó una ventana en un costado de 9 cm. de ancho por 22.5 cm. de largo y se cubrió con malla antiáfidos.



Fig. 15. Plántulas de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort).



Fig. 16. Recipiente de plástico para la colocación de plántulas de mandarina Cleopatra.



Fig. 17. Plántulas de Mandarina cleopatra (*Citrus reshni* Hort) depositadas en los recipientes de plástico.

En el día de realización del bioensayo se colectaron adultos de *D. citri* de las cámaras de reproducción y del vivero y se formaron grupos de 10 individuos depositados en botes de plástico con capacidad de 250 ml. Para adormecer los insectos y facilitar la aplicación de los tratamientos, dichos recipientes se colocaron en refrigeración durante 10 minutos a una temperatura de 7°C., concluido ese tiempo se colocaron en un congelador a una temperatura de 0°C, durante 5 minutos. En el presente bioensayo se evaluó la mortalidad de *Diaphorina citri* con diversos tratamientos alternativos bajo condiciones de exposición de adultos del mencionado insecto. En los ensayos se incluyó un testigo que fue asperjado con agua. Se evaluaron seis tratamientos con cinco repeticiones cada uno. Los tratamientos evaluados fueron:

1. Agua aplicada al insecto (Testigo 1).
2. Agua aplicada a la planta (Testigo 2).
3. Extracto de hormiga (*Solenopsis* spp., Hymenoptera: Formicidae) aplicado al insecto.
4. Extracto de hormiga (*Solenopsis* spp., Hymenoptera: Formicidae) aplicada a la planta.
5. Extracto de papaya aplicada al insecto.
6. Extracto de papaya aplicada a la planta.

Para obtener el extracto de hormiga se colectaron éstas de un hormiguero que se encuentra en el Campo Experimental, se trituraron en un mortero con pistilo y se tomaron 5 g de esta muestra los cuales se disolvieron en 50 ml de agua, se mezcló y se aplicó en los diferentes tratamientos indicados. En el caso de extractos de semilla de papaya, la

recolección de ésta se realizó de frutos de la variedad Maradol. Las semillas fueron lavadas y posteriormente maceradas. Se utilizó un total de material vegetal de 36 g al cual se le agregó como solvente 50 ml de agua, posteriormente se hicieron las diferentes aplicaciones de los tratamientos arriba indicados.



Fig. 18. Hormigas recolectadas.



Fig. 19. Preparación del extracto.



Fig. 20. Extracción de semillas de papaya.

En tres de los tratamientos se asperjó la planta antes de que se depositaran los adultos de *D. citri* en el recipiente y en los tres restantes se asperjó a los adultos. La aspersión se realizó con un atomizador con capacidad de 100 ml y un gasto de 0.135 ml/aspersión. La aplicación de los tratamientos a los insectos se realizó inmediatamente después de cumplir el período de tiempo en el congelador y se realizó directamente en el bote que los contenía. Posteriormente fueron liberados en cada arena experimental que contenía la plántula de mandarina Cleopatra. Concluidas las liberaciones en cada una de las arenas experimentales, éstas se colocaron en una cámara bioclimática a una temperatura de 26°C y fotoperíodo de 16:8 hrs. de luz y oscuridad. El registro de los datos se realizó al tercer día después de realizar el experimento.



Fig. 21. Cámara de incubación con temperatura regulada a 26°C y fotoperíodo 16:8 hrs. de luz: oscuridad.



Fig. 22. Cámara de incubación con las arenas experimentales del bioensayo.

Bioensayo 2. Evaluación de extractos de guayaba y aceite vegetal.

La arena experimental y los procedimientos realizados fueron similares al bioensayo anterior. En este experimento se evaluaron ocho tratamientos con seis repeticiones cada uno, los tratamientos fueron:

1. Aceite de soya marca Nutrioli + adherente aplicado al adulto
2. Aceite de soya marca Nutrioli + adherente aplicado a la planta
3. Extracto de follaje de guayaba aplicado al adulto
4. Extracto de follaje de guayaba molido aplicado a la planta
5. Infusión de follaje de guayaba aplicado al adulto
6. Infusión de follaje de guayaba aplicado a la planta
7. Agua aplicada al adulto (Testigo 1).
8. Agua aplicada a la planta (Testigo 2).

El tratamiento a base de aceite de soya se preparó con la mezcla de 6 ml de aceite Nutrioli® + 2 ml de surfactante por cada litro de agua. El aceite Nutrioli® contiene omega 3 y 6, 0 gr. de grasas trans por cada 946 ml. En el caso de los tratamientos en base al follaje de la guayaba, éstos se prepararon de la siguiente forma: para el extracto se obtuvieron 25 g de follaje tierno, el cual fue macerado en 300 ml de agua mediante la ayuda de un mortero y pistilo, al obtener un macerado uniforme, fue filtrado con la ayuda de tamices y una tela de malla fina. La infusión fue obtenida al hervir durante 10 minutos una cantidad similar de follaje de guayaba en 300 ml de agua; el producto fue mantenido

en reposo hasta enfriar y posteriormente fue filtrado con la ayuda de la tela fina. Para la aspersión de los productos se siguió el mismo procedimiento indicado en el bioensayo anterior, a excepción de que los adultos de *D. citri* fueron mantenidos en refrigeración durante 15 minutos y solamente 3 minutos en el congelador. Los adultos destinados para los tratamientos con aspersión a la planta solo fueron sometidos al período de refrigeración. Una vez concluidas las aspersiones de los tratamientos en cada una de las arenas experimentales se colocaron en la cámara bioclimática a una temperatura de 26°C y fotoperíodo de 16:8 hrs. de luz: oscuridad. El registro de datos se realizó también al tercer día del experimento.



Fig. 23. Plantas de guayaba mantenidas en el Campo Experimental Gral. Terán, N.L., para la obtención de follaje para evaluaciones experimentales.

Bioensayo 3. Evaluación de extractos de orégano (*Lippia graveolens* Kunth).

La arena experimental y los procedimientos realizados fueron similares a los bioensayos anteriores. En este experimento se evaluaron ocho tratamientos con diez repeticiones cada uno, los tratamientos fueron:

1. Solución madre de orégano licuado con agua purificada aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*.
2. Infusión madre de orégano aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*.
3. infusión madre de orégano aplicada directamente a las plantas.
4. Dilución 1:1 de la solución madre de infusión con agua purificada y aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*.
5. Dilución 1:10 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri* .
6. Dilución 1:100 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri* .
7. Dilución 1:1000 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*.
8. Aspersión de agua directamente sobre los adultos de *D. citri* (Testigo 1).
9. Aspersión de agua directamente sobre el follaje de las plántulas (Testigo 2).

El orégano se cosechó el día 30 de octubre de 2008 y el presente experimento se realizó el día 10 de noviembre de 2008. Para el primer tratamiento con orégano se preparó una solución madre mediante el licuado de 4 gr de lamina foliar de orégano con 80 ml de agua. El material vegetal y el agua se colocaron en una licuadora marca Osterizer de una velocidad y se licuó hasta que la lamina foliar se moliera homogéneamente; se obtuvo el líquido concentrado pasándolo por tamices y una triple tela de organza. Para el tratamiento de la infusión madre de orégano se utilizaron 4 gr. de lamina foliar de orégano, triturado en seco, de tal manera que pudiera sumergirse en 80 ml de agua purificada. El agua y el material de orégano fueron colocados en un vaso de precipitado

de 100 ml de capacidad, el cual se colocó en una plancha eléctrica con agitación, se cubrió con un platillo de vidrio, se dejó que llegara a punto de ebullición y posteriormente se retiró del calor y se dejó enfriar. El líquido se filtró con un colador de plástico. Esta infusión fue utilizada para realizar las diluciones correspondientes a los tratamientos indicados.



Fig. 24. Pesado del orégano.



Fig. 25. Preparación de la infusión.

Antes de la aplicación de los tratamientos, todos los insectos adultos se mantuvieron 15 minutos en refrigeración (10°C); posterior a este período, los grupos que recibieron directamente la aspersión fueron además mantenidos durante 4 minutos en congelación (-2°C). El procedimiento para la aspersión y manipulación de las arenas experimentales fue similar al efectuado en los bioensayos anteriores. El registro de los datos se realizó 48 hrs. después de efectuado el experimento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bioensayo 1. Evaluación de extractos vegetales e insectos: Semillas de papaya y hormigas rojas. La mortalidad promedio resultante de la aplicación de los tratamientos se presentó en un rango de 2-10.4%, con el valor mínimo registrado en el tratamiento dos, el testigo que recibió la aspersion de agua a la planta y el valor máximo fue registrado en el tratamiento seis basado en la aspersion del extracto de las semillas de papaya aplicado a la planta. De los tratamientos aplicados directamente a los adultos de *Diaphorina citri*, el tratamiento tres basado en el extracto de hormiga fue el que registró la mayor mortalidad con un valor promedio de 8% (Fig. 25).

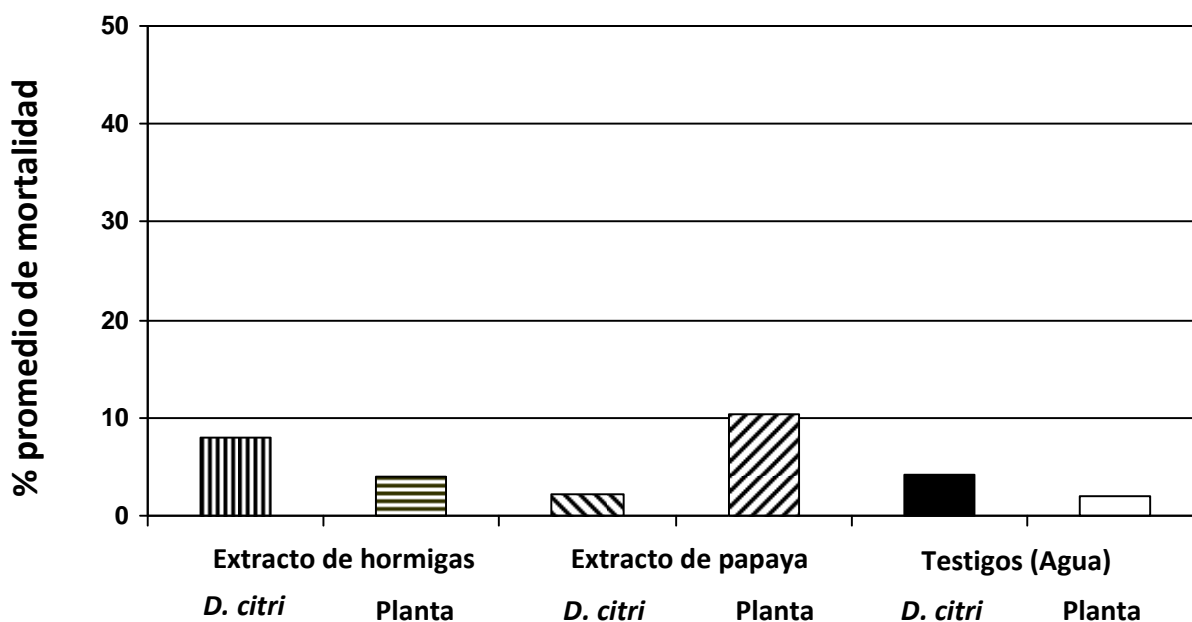


Fig. 26. Mortalidad de adultos de *Diaphorina citri* causada por extractos de hormiga roja y papaya y aplicados en aspersion directa al insecto o a la planta en los cuales las aplicaciones se realizaron directamente al insecto. Tratamientos: 1. Extracto de hormiga (*Solenopsis* sp., Hymenoptera: Formicidae) aplicado al insecto. 2. Extracto de hormiga aplicada a la planta. 3.

Extracto de semillas de papaya aplicada al insecto. 4. Extracto de semillas de papaya aplicada a la planta. 5. Agua aplicada al insecto (Testigo 1). 6. Agua aplicada a la planta (Testigo 2).

A pesar de que los tratamientos causaron una baja mortalidad en *D. citri*, los resultados son valiosos sobretodo por los valores que fueron registrados en los testigos y principalmente cuando la aspersion de agua fue realizada directamente a la planta, ya que se registró el valor mínimo de mortalidad (2%) de los adultos de *D. citri*, lo que indica una excelente conduccion del bioensayo. Asimismo, también es posible observar indicios de efectos diferentes de los tratamientos basados en extractos, los cuales son de mortalidad directa (extractos de hormiga) y de posible repelencia (extractos de semilla de papaya aplicados a la planta). Las hojas de papaya han sido utilizadas para controlar hongos, especialmente roya y cenicilla polvorienta, además existen informes de su uso como insecticida y vermificada (Chandler, 1962 citado por Ponce, 2006). Es necesario continuar con la línea de investigacion de este último tratamiento; ya que posiblemente la semilla de la papaya contiene compuestos que puedan ejercer repelencia de *D. citri*. Existe la posibilidad de que otro tipo de solventes o métodos de extraccion permitan obtener mayor cantidad del producto potencial que causa la repelencia.

Bioensayo 2. Evaluacion de extractos de guayaba y aceite vegetal. Los resultados obtenidos de la aplicacion de los tratamientos del presente bioensayo mostraron una mortalidad promedio en el rango de 28.7-64.6%, con el registro de la mortalidad menor en el tratamiento basado en la aspersion de agua al insecto y el mayor también fue registrado para el tratamiento testigo donde el agua fue aplicada a la planta. De la

mortalidad causada por el resto de los tratamientos evaluados, se observó que la aspersión de aceite de soya a la planta produjo una mortalidad promedio de 58.2%; mientras que el extracto de guayaba asperjado a la planta causó una mortalidad de 56.8%. Durante el presente bioensayo se cambió el tiempo de refrigeración y congelación de los adultos de *D. citri* con respecto al bioensayo anterior, lo cual fue posible que afectara el desarrollo del estudio, ya que el registro de la mayor mortalidad fue obtenido en el testigo basado en la aspersión de agua a la planta (Fig. 26, Cuadro 2).

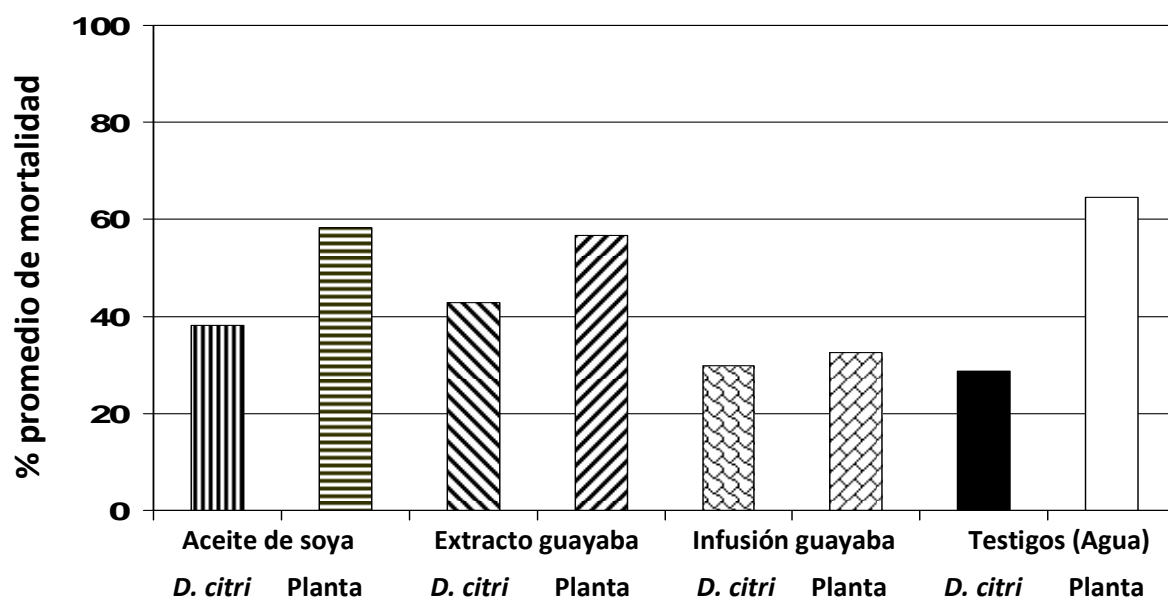


Fig. 26. Mortalidad promedio de *Diaphorina citri* causada por compuestos contenidos en hojas de guayaba y aceite vegetal de soya. Tratamientos: 1. Aceite de soya marca Nutrioli + adherente aplicado al adulto. 2. Aceite de soya marca Nutrioli + adherente aplicado a la planta. 3. Extracto de follaje de guayaba aplicado al adulto. 4. Extracto de follaje de guayaba molido aplicado a la planta. 5. Infusión de follaje de guayaba aplicado al adulto. 6. Infusión de follaje de guayaba aplicado a la planta. 7. Agua aplicada al adulto (Testigo 1). 8. Agua aplicada a la planta (Testigo 2).

A pesar de lo anterior, es conveniente indicar que los resultados obtenidos con los tratamientos basados en el follaje de guayaba podría significar algún interés respecto a la forma de preparar el material, ya que como es posible de observar, el tratamiento con el extracto crudo presentó mayor mortalidad que en el tratamiento donde el follaje fue hervido en agua (infusión), donde posiblemente la temperatura influyó en la obtención del producto que podría afectar a *D. citri*. Para investigaciones subsecuentes, se sugiere ampliar la exploración a extractos crudos con el uso de otro tipo de solventes, ya que en el presente estudio solo se utilizó agua.

El auge en la investigación sobre la relación guayaba-*D. citri* parte de observaciones realizadas en 2004 en Viet-Nam, donde se indicó que en huertos de cítricos intercalados con guayaba, la incidencia del vector y del HLB era nula o muy baja. (ACIAR, 2008). Esto fue investigado con más detalle por el SOFRI (Southern Fruit Research Institute) de Viet-Nam, donde se confirmó que esta practica de cultivo mantenía las plantaciones de cítricos libres de HLB, debido a que la guayaba ejercía un efecto repelente hacia *Diaphorina citri*. (FFTC, 2007). Sin embargo, evidencias recientes también indican lo contrario, con infección por HLB similar entre huertos intercalados y no intercalados con guayaba en tan solo tres años después de la invasión por vectores infectivos (Ichinose *et al.*, 2008). No obstante esto, los efectos de la guayaba en el vector han sido estudiado intensivamente en laboratorio y los avances más recientes indican los componentes activos de los tejidos de la guayaba, de los cuales varios sulfuros volátiles, principalmente: sulfito de hidrógeno, dióxido de azufre, metametiol, sulfuro de dimetilo (DMS), disulfuro

de dimetilo (DMDS), metional y trisulfuro de dimetilo (DMTS) son los productos generalmente obtenidos y asociados con la repelencia de *D. citri*. (Rouseff *et al.* 2008a,b). El DMDS es tóxico a los insectos, forma parte de las defensas de la planta y es liberado cuando las hojas sufren daños mecánicos (Rouseff *et al.*, 2008a). El DMDS (C₂H₆S₂) es un producto conocido desde hace años por los investigadores. Su actividad insecticida es del tipo neurotóxica ya que interviene con los canales de calcio y potasio de las células nerviosas (Carlini y Grossi-de-sa, 2002; Dugravots *et al.*, 2003). El DMDS se forma inmediatamente después que las hojas son lesionadas y permanece en el ambiente alrededor de la planta por cerca de 10 minutos; este compuesto no es producido por los árboles de cítricos (Rouseff *et al.*, 2008a,b). *D. citri* es posible que evite la presencia de volátiles de guayaba en las plantas de cítricos (Rouseff *et al.*, 2008a,b; Zaka y Zeng, 2008).

Bioensayo 3. Evaluación de extractos de orégano (*Lippia graveolens* Kunth).

En el presente bioensayos, los resultados obtenidos muestran que la mortalidad ocasionada por los tratamientos en *D. citri* se presentó en el rango de 13.1-35.5%, con la mínima mortalidad registrada en el tratamiento con la infusión madre aplicada al insecto, y la máxima fue obtenida en el tratamiento donde se asperjó la dilución 1:1 de la infusión preparada con el orégano (Fig. 27, Cuadro 2). La mortalidad registrada en los tratamientos testigos fue de 34.2% cuando se asperjó directamente al insecto y de 18.4% cuando la planta recibió la aspersion del agua (Fig. 27, Cuadro 2). Al igual que en el bioensayo anterior, las condiciones del manejo del adulto para recibir las aspersiones de los tratamientos variaron con respecto al primer bioensayo indicado (evaluación de

extractos de papaya y hormigas), es decir, se incrementó el tiempo de refrigeración y se disminuyó el de congelación, con lo cual se esperaba obtener mejores resultados de supervivencia en los tratamientos testigos; sin embargo, sucedió lo contrario, por lo cual los resultados fueron afectados, ya que si bien se llegó a registrar hasta 35.5% en el tratamiento con la infusión madre aplicada al insecto, en el testigo se registró un valor promedio de 34.2%. Para futuras investigaciones con este insecto se recomienda realizar el mismo procedimiento de bioensayos con condiciones de tiempo de refrigeración de 10 minutos y 5 minutos de congelación. Además, se sugiere explorar aún más los extractos crudos, ya que la mayoría de los tratamientos estuvieron relacionados con el uso de infusiones. También será necesario utilizar otro tipo de solventes que permitan obtener diferentes compuestos del orégano, ya que varios han demostrado actuar como un veneno con actividad ovicida, inhibitoria de la reproducción o de la sinapsis y varios han sido documentados por sus efectos en larvas del mosquito *Culex pipiens molestus* y contra huevos y adultos de *Mayetiola destructor* (Lamiri *et. al.*, 2001; Traboulsi *et al.*, 2002).

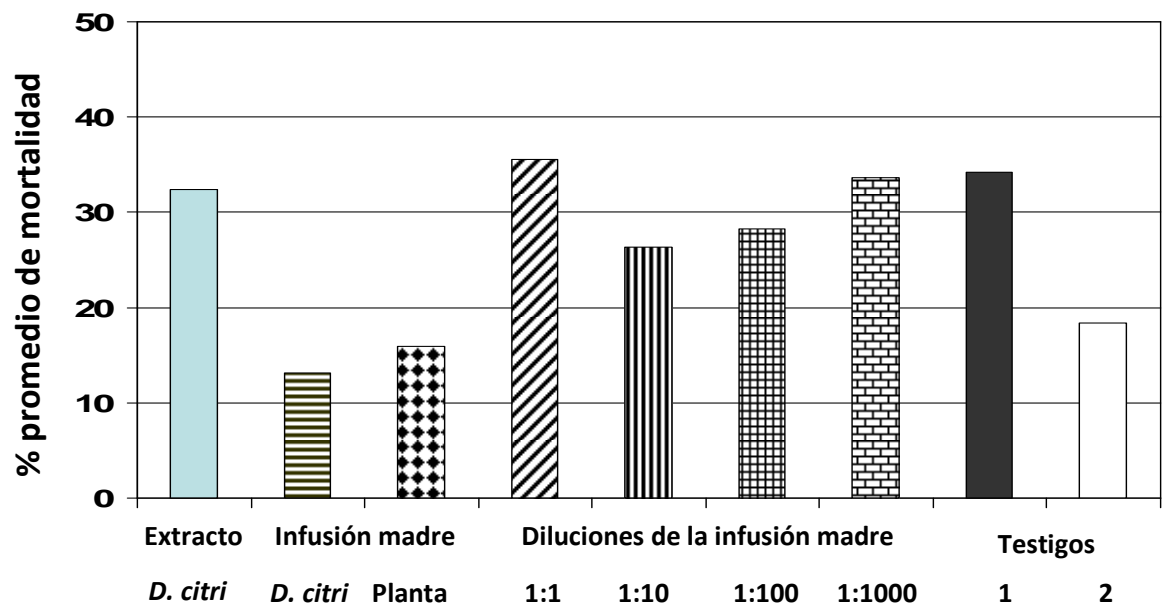


Fig. 27. Mortalidad promedio de *Diaphorina citri* causada por compuestos contenidos en hojas de orégano. Tratamientos: 1. Solución madre de orégano licuado con agua purificada aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 2. Infusión madre de orégano aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 3. Infusión madre de orégano aplicada directamente plantas. 4. Dilución 1:1 de la solución madre de infusión con agua purificada y aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 5. Dilución 1:10 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 6. Dilución 1:100 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 7. Dilución 1:1000 aplicada directamente a adultos de *Diaphorina citri*. 8. Aspersión de agua directamente sobre los adultos de *D. citri* (Testigo 1). 9. Aspersión de agua directamente sobre el follaje de las plántulas (Testigo 2).

Cuadro 2. Mortalidad promedio de *Diaphorina citri* causada por diferentes tratamientos evaluados en los bioensayos.

	Promedio \pm Desviación Estándar				
Bioensayo 1 Tratamientos	Mortalidad (%)	Bioensayo 2 Tratamientos	Mortalidad (%)	Bioensayo 3 Tratamientos	Mortalidad (%)
Extracto de hormigas (<i>D. citri</i>)	8 \pm 1.3	Aceite de soya (<i>D. citri</i>)	38.13 \pm 1.9	Extracto de orégano (<i>D. citri</i>)	32.41 \pm 3.4
Extracto de hormigas (planta)	4 \pm 0.8	Aceite de Soya (planta)	58.16 \pm 2.2	Infusión madre de orégano (<i>D. citri</i>)	13.07 \pm 1.2
Extracto de papaya (<i>D. citri</i>)	2.22 \pm 0.4	Extracto de Guayaba (<i>D. citri</i>)	42.86 \pm 2.8	Infusión madre de orégano (planta)	15.92 \pm 1.3
Extracto de papaya (planta)	10.4 \pm 0.7	Extracto de guayaba (planta)	56.81 \pm 2.2	Dilución de infusión madre de orégano 1:1	35.46 \pm 2.4
Testigo (Agua <i>D. citri</i>)	4.22 \pm 0.5	Infusión Guayaba (<i>D. citri</i>)	29.9 \pm 2	Dilución de infusión madre de orégano 1:10	26.27 \pm 3.3
Testigo (planta)	2 \pm 0.4	Infusión guayaba (planta)	32.55 \pm 1.4	Dilución de infusión madre de orégano 1:100	28.21 \pm 4.1
		Testigo (Agua <i>D. citri</i>)	28.7 \pm 2.7	Dilución de infusión madre de orégano 1:1000	33.55 \pm 3.7
		Testigo (Agua planta)	64.61 \pm 1.5	Testigo 1	34.16 \pm 3.1
				Testigo 2	18.42 \pm 1.7

En el presente estudio los diferentes tratamientos evaluados causaron una mortalidad muy baja de *D. citri*, por lo que aún no es posible considerar a estos como productos alternativos para el control de la plaga, ya que aún se requiere establecer nuevas líneas de investigación para continuar con los estudios de exploración para la obtención de productos efectivos y seguros para el control de *D. citri*. Sin embargo, con base en los resultados de los bioensayos realizados es posible sugerir el establecimiento de un protocolo de bioensayo para la evaluación en laboratorio de productos para el control de adultos de *D. citri*. Para un desarrollo satisfactorio del bioensayo, éste deberá de incluir lo siguiente:

1. Adultos de *D. citri* colectados y depositados en recipientes de plástico transparente con capacidad de 250 ml, en grupos de 10 insectos.
2. Arena experimental integrada por plántulas de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort) sembradas en vasos de unicel, con uso de sustrato comercial y ras del vaso cubierto con papel destreza.
3. Cada maceta colocada en un recipiente de plástico con capacidad de un litro, con tapa y una ventana de malla antiáfidos.
4. Para facilitar la aspersión de productos a evaluar en los insectos, es importante someterlos a refrigeración durante 10 minutos y posteriormente en congelación durante 5 minutos.
5. Aplicar los tratamientos a los insectos inmediatamente después de cumplir el período de tiempo en el congelador y realizarlo directamente en el recipiente que los contenga.
6. El atomizador utilizado característicamente realizaba un gasto de 0.135 ml/aspersión.

7. Después de la aspersión, liberar los insectos dentro de cada arena experimental que contenga la plántula de cítricos.
8. Mantener las arenas experimentales en una cámara bioclimática a una temperatura de 26°C y fotoperíodo de 16:8 horas de luz y oscuridad.
9. Evaluar mortalidad de *Diaphorina citri* a las 48-72 horas después de aplicar los tratamientos.

CONCLUSIONES

1. En el presente estudio los diversos productos alternativos evaluados carecieron de efectos notables para el control de *Diaphorina citri*.
2. Se obtuvo un protocolo de bioensayos para la evaluación de productos para el control de adultos de *Diaphorina citri*, en el cual para manipular los adultos y facilitar la aspersión de tratamientos a evaluar, es crucial considerar el tiempo de refrigeración y congelación de los adultos indicados en dicho protocolo.

BIBLIOGRAFIA

ACIAR. (2008). The 'guava effect': a new tool in the fight against citrus greening.

In: Vietnam – Achievements. ACIAR/2007-2008 Report.

Aubert, B. 1987. *Trioza erytreae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama

(Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease:

Biological aspects and possible control strategies. *Fruits* 42:149-162.

Aligiannis, N., E. Kalpoutzakis, S. Mitaku, I.B. Chinou. 2001. Composition and

antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J.*

Agric. Food Chem. 49: 4168-4170.

Anónimo. (s/a). Psílido Asiático de los Cítricos (**Diaphorina**).

<http://seder.col.gov.mx/Direcciones/dsanidad/psilido.pdf>

Batish, D., H. Singh, R. Kohli y S. Kaur. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural

pesticide. *Forest Ecol. Manage.* In Press.

Doi:10.1016/j.foreco.2008.08.008.

Bánki, L. 1978. Bioassay of Pesticidas in the Laboratory and Quality Control.

Akademiai Kiadó. Budapest, Hungary. 475 p.

Bassole I.H.N., A.S. Ouattara, R. Nebie, C.A.T. Ouattara, Z.I. Kabore, S.A. Traore.

2003. Chemical composition and antibacterial activities of the essential

oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso.

Phytochem. 62(2): 209-212.

- Beattie, A. 2008.** Retrospectives & Insights: Huanglongbing, *Diaphorina citri*, Citrus, Guava and Minerals Oils. ACIAR-University of Western Sydney. Australia.
- Burckhardt, D. 1994.** Generic key to Chilean jumping plant-lice (Homoptera: Psylloidea) with inclusion of potential exotic pests. Rev. Chilena Ent. 21:57-67.
- Busvine, J.R. 1971.** A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides. 2nd. Ed. Commonwealth Bureaux. England. 345 pp.
- Cáceres, S. 2002.** El Psílido asiático *Diaphorina citri*, plaga potencial de los citrus: situación en Corrientes. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. <http://www.inta.gov.ar/bellavista/info/documentos/citricos/ps%EDlido.htm>
- Carlini, C.R., and M.F. Grossi-de-sa. 2002.** Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. Toxicon 40: 1515–1539.
- Cermeli, M., P. Morales, y F. Godoy. 2000.** Presencia del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. Bol. Entomol. Venez. 15(2):235-243.
- Catling, H.D. 1970.** Distribution of the psyllid vectors of citrus greening disease with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. FAO Plant Protection Bulletin, 18:8-15.

Cobelo, L. 2005. Un citrus sin intrusos.

<http://www.clarin.com/suplementos/rural/2005/09/24/r00411.htm>

Coronado, J.M., E. Ruíz, S.N. Myartseva, y G. Gaona. 2003. *Tamarixia* sp., (Hymenóptera: Eulophidae), parasitoide del psílido Asiático de los cítricos en Tamaulipas, México, pp. 71-73. In: Memorias del XXVI Congreso Nacional de Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico, Guadalajara, Jal., Méx.

Champ, B.R., and C.E. Dyte 1976. Informe de la Prospección mundial de la FAO sobre la susceptibilidad a los Insecticidas de las Plagas de Granos Almacenados. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal. No. 5.

Cheng S., J. Liu, C. Huang, Y. Hsui, W. Chen and S. Chang. 2009. Bioresource Technology. 100. 457-464.

da Graca, J.V. 1991. Citrus greening disease. Annu. Rev. Phytopathol. 29: 109-136.

da Graca, J.V., and L. Korsten. 2004. Citrus huanglongbing: Review, present status and future strategies, pp. 229-245. In: S.A.M.H. Naqvi (ed.) Diseases of fruits and vegetables, Vol. 1. Kluwer Academic Publishers. The Netherlands.

Dugravot, S., F. Grolleau, D. Macherel, A. Rochetaing, B. Hue, M. Stankiewicz, J. Huignard, B. Lapied. 2003. Dimethyl disulfide exerts insecticidal neurotoxicity through mitochondrial dysfunction and activation of insect KATP channels. Journal of Neurophysiology 90(1): 259-270.

- Eesa, N. and L.K. 1984.** Glossary of Pesticide Toxicology and Related Terms. Thomson Publications. Fresno, CA., U.S.A. 84 p.
- EPPO/CABI 2005.** PQR database (version 4.4). Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization.
- Étienne, J., S. Quilici, D. Marival and A. Franck. 2001.** Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). *Fruits*. 56: 307-315.
- FFTC. 2007.** Evolution of Citrus Greening Pathogen (HLB) Strains in Aspac (Year 2). FFTC Pub.2007-09-04.
- Figuroa, R.B. 2002.** Sitio y mecanismo de acción de *Caryca papaya* (Caricaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). SIP2006743. Campo de desarrollo de Ciencias Agrícolas. Investigación Básica. Facultad de Química de la UNAM.
- Gautier, H., J. Auger, C. Legros, and B. Lapied. 2008.** Calcium-activated Potassium channels in insect pacemaker neurons as unexpected target site for the novel fumigant dimethyl disulfide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 324(1): 149-159.
- Gerothanassis I.P., V. Exarchou, V. Lagouri, A. Troganis, M. Tsimidou, D. Boskou. 1998.** Methodology for identification of phenolic acids in complex phenolic mixtures by high-resolution two-dimensional nuclear magnetic resonance. Application to methanolic extracts of two oregano species. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4185-4192.

- González, C., M. Borges, O. Castro, D. Hernández, J.L. Rodríguez, and R.I. Cabrera. 2000a.** Report of natural enemies of *Diaphorina citri* Kuw (Homoptera: Psyllidae). In: International Society of Citriculture-Congress 2000. Program and Abstracts. 3-7 December 2000, Orlando Fl.
- González, C., D. Hernández, R.I. Cabrera, J.R. Tapia. 2000.** *Diaphorina citri* Kuw., inventario y comportamiento de los enemigos naturales en la citricultura cubana. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. La Habana, Cuba. 10 pp.
- Halbert, S.E. 1999.** Asian citrus psyllid- A serious exotic pest of Florida citrus. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, University of Florida. <http://doacs.state.fl.us/~pi/enpp/ento/dcitri.htm>.
- Halbert, S.E., and K.L. Manjunath. 2004.** Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Florida Entomologist* 87(3):401-402
- Halbert, S.E., and K.C.A. Núñez. 2004.** Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. *Florida Entomologist* 87(3):330-353.
- Hoy, M.A. and R. Nguyen. 1998.** Citrus Psylla: Here in Florida –An Action Plan– Updated. The UF/IFAS Pest Alert. <http://pestalert.ifas.ufl.edu/hoy0615.htm>

- Hoy, M.A., R. Nguyen, and A. Jeyaprakash. 1999.** Classical biological control of Asian citrus psylla: Release of *Tamarixia radiata*. Citrus Industry 80: 20-22.
- Hubert, J.J. 1980.** Bioassay. Kendall/Hurt Pluid Do. U.S.A. 164 p.
- Ichinose, K., D.V. Bang, and L.Q. Dien. 2008.** Better management for citrus greening: chemical-uses or guava-interplanting? *In*: Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. USDA, University of Florida. December 2008. Orlando Fl.
- Isman, M. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection. 19: 603-608.
- Justesen U., P. Knuthsen. 2001.** Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. Food Chemistry. 73: 245-250.
- Karp,D. 2008.** Citrus industry pins hope on studies of a dire disease. New Yor Times. D1. 8/28/2008.
- Knapp, J. L.; S. Halbert; R. Lee; M. Hoy; R. Clark and M. Kesinger. 2006.** Asian Citrus Psyllid and Citrus Greening Disease. University of Florida. IFAS Extension.
<http://ipm.ifas.ufl.edu/agriculture/citrus/asian.shtml>
- Knighten, C., J. Redding, D. Feiber, and L. Compton. 2005.** U.S. Department of Agriculture and Florida Department of Agriculture confirm detection of

citrus

greening.

http://www.doacs.state.fl.us/press/2005/09022005_2.html

Lagunes, A. y M. Vázquez. 1994. el bioensayo en el manejo de insecticidas y acaricidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo. México.

Lamiri, A., S. Lhaloui, B. Benjilali, M. Berrada. 2001. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). Field Crops Res. 71: 9-15.

López-Arroyo, J.I. 2001. Depredadores de áfidos asociados a los cítricos en Nuevo León, México. In: Memorias del Congreso Nacional de Entomología. Sociedad Mexicana de Entomología. Julio de 2001. Querétaro, Qro.

López-Arroyo, J.I., J. Loera Gallardo, M.A. Reyes Rosas, y M.A. Rocha Peña 2003. Estado actual de las plagas potenciales de los cítricos en México ¿Es la oportunidad para el uso de depredadores?, pp. 249-263. In: R. Alatorre y V. Sandoval (Ed.) Memorias del XIV Curso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre 3-5 2003. Guadalajara, Jalisco, Méx.

López-Arroyo, J.I., M.A. Peña, M.A. Rocha-Peña, and J. Loera. 2004. Occurrence of the Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Mexico, pp. 179. In: XI Conference of the International Organization of

Citrus Virologists. Abstracts. November 2004. Monterrey, Nuevo León, México.

López-Arroyo, J.I., M.A. Peña, M.A. Rocha-Peña, y J. Loera. 2005. Ocurrencia en México del psílido asiático *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), pp. C68. En: Memorias del VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chih., Méx.

Magaro, J.J. and J.V. Edelson. 1990. Cabagge Looper Topical Bioassay, 1990. In. Anónimo. Insecticide & Acaricide Tests 1991. E.S.A. Vol. 16: 291-292.

Matthews, G.A. 1984. Pest management. Longman. New York, U.S.A. 231 p.

McFarland, C.D., and M.A. Hoy. 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.

Mead, F. 1977. The Asiatic Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). Fla. Dept. Agric & Consumer Servi. Division of Plant Industry. Entomol Circular No. 180. 4pp.

Michaud, J.P. 2001. Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. Fla. Entomol. 84: 608-612.

Michaud, J.P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. Biological Control 29 (2): 260-269.

- Milos M., J. Mastelic, I. Jerkovic. 2000.** Chemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare L. ssp. hirtum*). Food Chem. 2000; 71, 79-83.
- Oladimeji FA, O.O. Orafidiya, T.A.B. Ogunniyi, T.A. Adewunmi. 2000.** Pediculocidal and scabicial properties of *Lippia multiflora* essential oil. J. Ethnopharmacol. 2000; 72: 305-311.
- Pierce A. Practical guide to natural medicines. 1999.** The American Pharmaceutical Association. A Stonesong Press Book. William Morrow and Company, Inc. New York. 1999; p 728.
- PMN. 2007.** Suppressing Psyllids Could Curb Citrus Disease. USDA-ARS Publication. Plant Health Progress. Feb/2007.
- Ponce, S., J. 2006.** Efectividad biológica de extractos vegetales sobre inmaduros de *Bactericera cockerelli* (Sulcen) *in Vitro*. Tesis. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 68 p.
- Prates HT, J.P. Santos, J.M. Waquil, J.D. Fabris, A.B. Oliveira, J.E. Foster. 1998.** Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbs). J. Stored Prod. Res. 1998; 34 (4): 243-249.
- Robertson, J.L., K.C. Smith, N.E. Savin, and R.L. Lavigne. 1984.** Effects of Dose Selection and Sample Size on the Precision of Lethal Dose Estimates in Dose-Mortality Regression. J. econ. Entomol. 77:883-837.

- Roistacher, C. N. 1991.** Graft -transmissible diseases of citrus. *In: Handbook for Detection and Diagnosis. International Organization of Citrus Virologist. FAO. Rome. pp: 115-120.*
- Rouseff, R. L., E.O. Onagbola, J.M. Smoot, and L.L. Stelinski. 2008a.** Sulfur Volatiles in Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Possible Defense Mechanism. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56 (19), pp 8905–8910.
- Rouseff, R.L., E.O. Onagbola, J.M. Smoot, and L.L. Stelinski. 2008b.** Wounding of guava (*Psidium guajava* L.) leaves produces defensive sulfur volatiles. *In: Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. USDA, University of Florida. December 2008. Orlando Fl.*
- Ruíz, E., J.M. Coronado, y S.N. Myartseva. 2005.** Plagas de los cítricos y sus enemigos naturales en el estado de Tamaulipas, México. *Entomol. Mex.* 4: 931-936.
- Rural, La Gaceta. (s/a).** Citrus: Huanglongbing (HLB), ex-greening.
<http://www.eeaoc.org.ar/noticias/noticia.asp?seccion=noticias&id=585>
- Stover, E.W., T.R. Gottwald, D.G. Hall, M.K. Aradhya, F.T. Zee, J. Crane. 2008.** Guava SSR Analysis: Diversity Assessment and Similarity to Accessions Associated with Reducing Citrus Greening in Vietnam. USDA-ARS.
- Tsai J.H., and Y.H. Liu. 2000.** Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. *J. Economic Entomology* 93(6):1721-1725.

Thomas, D.B. 2002. Trip report: Status of the brown citrus aphid in the Mexican state of Campeche: April 2002. USDA-ARS. Kika de la Garza Subtropical Agriculture Research Center. Weslaco, Texas. 9 pp.

Traboulsi A.F., K. Taoubi, S. El-Haj, J.M. Bessiere, S. Rammal. 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). Pest Management Sci. 2002; 58: 491-495.

Villalobos, W., C. Godoy, and C. Rivera. 2004. Occurrence of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), the vector of Huanglongbing, in Costa Rica. In: Proceedings of the XVI Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Monterrey, N.L., Mex., 7-13 November 2004.

Wooler A., D. Padgham, and A. Arafat 1974. Outbreaks and new records. Saudi Arabia. *Diaphorina citri* on citrus. FAO Plant Protection Bulletin 22: 93-94.

www.concitver.com

www.sagarpa.senasica.gob.mx

www.seder.col.gob.mx

Zaka, S.M., and X.N. Zeng. 2008. Repellent effect of guava odor against adults of citrus psyllid, *Diaphorina citri*. In: Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. USDA, University of Florida. December 2008. Orlando FL.

Zava D.T., C.M. Dollbaum, M. Blen. 1998. Estrogen and progestin bioactivity of foods, herbs and spices. Soc. Exp. Biol. Med. 1998; 217(3): 369-378.