

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



ANÁLISIS DE *Hirsutella citrifomis* Speare (Ascomycota: Hypocreales) Y *Zelus longipes* Linneo. (Het., Reduviidae) COMO ENEMIGOS NATURALES DE *Diaphorina citri* Kuwayama.

Por:

ANA YELLY REYES MARTINEZ.

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO.

Saltillo, Coahuila México.

Septiembre 20

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

División de agronomía
Departamento de Parasitología.

ANALISIS DE *Hirsutella citriformis* Speare (Ascomycota: Hypocreales)
Y *Zelus longipes* Linneo. (Het., Reduviidae) COMO ENEMIGOS
NATURALES DE *Diaphorina citri* Kuwayama.

Tesis elaborada por:

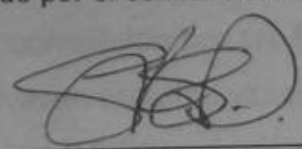
ANA YELLY REYES MARTINEZ.

Que somete a consideración para obtener el título del H. Jurado Examinador como
requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITÓLOGO.

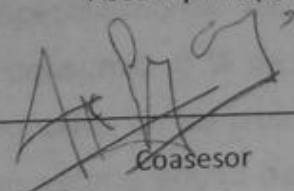
Aprobado por el Comité de Sinodales

Dr. Sergio Rene Sánchez Peña.



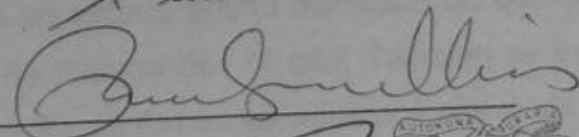
Asesor principal

Dr. José Isabel López Arroyo.



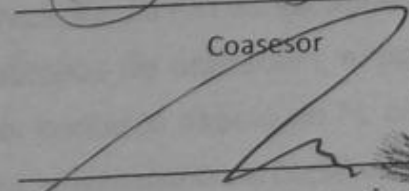
Coasesor

Mc. Rebeca Casique Valdés.

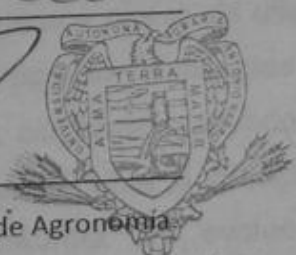


Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera.



Coordinador de la División de Agronomía



Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México.

Septiembre 2011.

ÍNDICE DE CONTENIDO.

Página

ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.	1
LITERATURA REVISADA.	5
Clasificación taxonómica de <i>Diaphorina citri</i>	5
Descripción de <i>Diaphorina citri</i>	6
Biología y ecología de <i>Diaphorina citri</i>	8
El HLB y sus síntomas en cítricos	10
Plantas hospederas de <i>Diaphorina citri</i> y de <i>Candidatus Liberibacter</i>	11
Agentes de control biológico de <i>Diaphorina citri</i>	13
Depredadores.	13
Parasitoides.....	13
Hongos Entomopatógenos.	14
Clasificación taxonómica de <i>Zelus longipes</i>	14
Distribución de <i>Zelus longipes</i>	15
Ciclo de vida y descripción de <i>Zelus longipes</i>	15
Huevo.	16
Ninfas.	17
Importancia económica.	19

Taxonomía de <i>Hirsutella citriformis</i> Speare.....	19
Descripción de <i>H. citriormis</i>	19
Hongo entomopatógeno parasito obligado en forma natural.....	19
Hospederos de <i>H. citriformis</i>	20
Distribución geográfica.....	20
 MATERIALES Y METODOS.....	 21
Localización.....	21
Fluctuación Poblacional de <i>Zelus longipes</i>	21
Establecimiento de una colonia de <i>Z. longipes</i>	21
Bioensayo con ninfas de <i>Z. longipes</i>	22
Bioensayo con adultos de <i>Z. longipes</i>	24
II. Observaciones con <i>H. citriformis</i>	26
Obtención de la Cepa de <i>H. citriformis</i>	26
Aislamiento de <i>H. citriformis</i>	26
Identificación de <i>H. citriformis</i>	28
Obtención de <i>D. citri</i>	28
Producción del hongo.....	28
Hongo utilizado.....	28
Producción del hongo <i>H. citriformis</i> en granos de trigo como sustrato en bolsas de plástico.....	28
Producción del hongo <i>H. citriformis</i> en granos de trigo, avena y arroz en botellas de vidrio.....	30
Condiciones de los Bioensayos realizados con <i>H. citriformis</i>	31
Infección de <i>D. citri</i> : exposición a insectos micosados con <i>H. citriformis</i> (Insecto a Insecto).	33
Infección de <i>D. citri</i> (Suspensión de <i>H. citriformis</i> en agua).....	33

Infección de <i>D. citri</i> expuestas a sinemas de <i>H. citrifomis</i>	33
Infección de <i>D. citri</i> expuestas a esporas en seco; exposición de <i>H. citrifomis</i> directamente de medio PDA.....	34
RESULTADOS.....	35
I. Observaciones de <i>Z. longipes</i>	35
<u>Fluctuación de la población de adultos y ninfas a diferentes horas.</u>	35
<u>Depredación de ninfas de <i>Z. longipes</i> sobre adultos <i>D. citri</i>.</u>	38
<u>Depredación de ninfas de <i>Z. longipes</i> sobre ninfas de <i>D. citri</i>.</u>	38
<u>Depredación de ninfas de <i>Z. longipes</i> sobre huevos de <i>D. citri</i>.</u>	40
<u>Depredación de adultos de <i>Z. longipes</i> sobre adultos de <i>D. citri</i>.</u>	40
<u>Depredación de adultos de <i>Z. longipes</i> sobre ninfas de <i>D. citri</i>.</u>	42
<u>Depredación de adultos de <i>Z. longipes</i> sobre huevos de <i>D. citri</i>.</u>	43
II. Observaciones con <i>Hirsutella citrifomis</i>	44
Producción en bolsas de plástico del hongo <i>H. citrifomis</i> en granos de trigo como sustrato.	44
Producción en botellas del hongo <i>H. citrifomis</i> en granos de trigo, arroz y hojuelas de avena.....	44
Resultados de la Infección de <i>D. citri</i> : exposición de adultos a insectos micosados con <i>H. citrifomis</i> (Infección de Insecto a Insecto).....	46
Resultados de la Infección de ninfas <i>D. citri</i> por exposición a una suspensión de conidias de <i>H. citrifomis</i> en agua.....	48
Resultados de la Infección de adultos de <i>D. citri</i> expuestas a sinemas de <i>H. citrifomis</i> producidos en cultivo en laboratorio.....	49
Resultados de la Infección de <i>D. citri</i> expuestas a esporas en seco; de <i>H. citrifomis</i> directamente de medio PDA.....	50
DISCUSION.	52
LITERATURA CITADA.....	54

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS.

Tabla 1. Tratamientos para observación de depredación de <i>D. citri</i> por ninfas de <i>Z. longipes</i>	23
Tabla 2. Tratamientos para observación de depredación de <i>D. citri</i> por adultos de <i>Z. longipes</i>	25
Tabla 3. Bioensayos evaluados en laboratorio de <i>H. citrifomis</i> en <i>D. citri</i>	32
Figura 1. Producción mundial de cítricos FAO, 2009.	1
Figura 2. Producción y superficie sembrada en México en el 2009.	2
Figura 3. Distribución de Huanglongbing (HLB) en México, 2011.	3
Figura 4. Adulto de <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama.	6
Figura 5. Huevos de <i>D. citri</i>	7
Figura 6. Ninfas de <i>D. citri</i>	8
Figura 7. Ninfas de <i>D. citri</i> con excretas (mielecilla) conocidas comúnmente como salerillo. ...	9
Figura 8. Síntomas característicos del HLB en cítricos.	10
Figura 9. Flores, hojas y frutos de <i>M. paniculata</i>	12
Figura 10. Síntomas de HLB en <i>Murraya</i>	12
Figura 11. Adulto de <i>Zelus longipes</i>	16
Figura 12. Huevos de <i>Z. longipes</i>	16
Figura 13. Ninfas de 1 instar de <i>Z. longipes</i>	18
Figura 14. Crecimiento de sinemas de <i>H. citrifomis</i> en adultos de <i>D. citri</i>	26
Figura 15. Fotografía al microscopio de sinemas (fructificaciones) del hongo	27
Figura 16. Número de <i>Z. longipes</i> y porcentajes de adultos y ninfas.	35
Figura. 17. Fluctuación de la población de adultos y ninfas de <i>Z. longipes</i> observada durante los meses de Febrero 24 –Abril 14.	36
Figura 18. Porcentaje en relación a la población total de <i>Z. longipes</i> observada en diferentes horas del día.	37

Figura 19. Se observa el porcentaje de <i>Z. longipes</i> en relación al estado biológico de <i>Z. longipes</i> en la hora del día en la que se realizó la observación.	37
Figura 20. Tratamiento 1. Porcentaje de depredación de ninfas de <i>Z. longipes</i> sobre adultos de <i>D. citri</i>	38
Figura 21. Tratamiento 2. Porcentaje de depredación de ninfas de <i>Z. longipes</i> sobre ninfas de <i>D. citri</i>	39
Figura 22. Tratamiento 3. Porcentaje de depredación de ninfas 1 <i>Z. longipes</i> sobre huevos de <i>D. citri</i>	39
Figura 23. Tratamiento 4. Porcentaje de depredación de <i>Z. longipes</i> adultos sobre adultos de <i>D. citri</i>	41
Figura 24. Tratamiento 5. Porcentaje de Adultos de <i>Z. longipes</i> depredando ninfas de <i>D. citri</i>	41
Figura 25. Tratamiento 6. Porcentaje de depredación de <i>Z. longipes</i> sobre huevos de <i>Diaphorina citri</i>	42
Figura 26. Sinemas observados de la cepa CH8D13 del hongo <i>H. citrifomis</i> en granos de trigo integral como medio de cultivo. Abundante producción de fructificaciones del hongo (sinemas).....	44
Figura 27. Crecimiento de <i>H. citrifomis</i> en granos de arroz.....	45
Figura 28. <i>H. citrifomis</i> creciendo en granos de trigo y Sinemas envolviendo un grano de trigo.....	45
Figura 29. <i>H. citrifomis</i> en hojuelas de avena.	46
Figura 30. Tratamiento 1.Mortalidad de <i>D. citri</i> causado por Insectos micosados.....	47
Figura 31. Tratamiento 2 Mortalidad de ninfas de <i>D. citri</i> de diferentes instares causada por <i>H. citrifomis</i> dilución en agua.	48
Figura 32.Tratamiento 3. Mortalidad de <i>Diaphorina citri</i> infectado con sinemas.....	49
Figura 33. Crecimiento de adultos <i>H. citrifomis</i> en adulto de <i>D. citri</i> inoculado por contacto con sinemas producidos en laboratorio.	50
Figura 34.Tratamiento 4.Mortalidad expresada en <i>D. citri</i> infección por exposición de <i>H. citrifomis</i> directamente de medio PDA.....	50
Figura 35. Adulto de <i>D. citri</i> inoculado con <i>H. citrifomis</i> mostrando sinemas (crecimiento del hongo). Resultados obtenidos de los bioensayos exposición directa de medio de cultivo.	51

AGRADECIMIENTOS.

A todos y cada uno de **Mis profesores (as)** de la universidad por sus enseñanzas y oportunidades dadas.

Dr. José I. López Arroyo. INIFAP. Por el apoyo para la realización de este proyecto de investigación.

Dr. Sergio René Sánchez Peña. Por haber sido mi profesor, tutor y asesor de tesis, sus enseñanzas, correcciones y ayuda mostrada me servirán de mucho. Gracias por ello.

Mc. Rebeca Casique Valdés y Fer. Por ayudarme en muchísimo, compartir conmigo su alegría, enseñanzas. Excelentes personas, cálidas y muy amables.

Dr. Jorge E. Peña y Rita Duncan. Universidad de Florida. Por la realización de mi estancia y apoyo en la misma fue gran una experiencia.

Dra. Iliana I. Hernández Javalera. Por su ayuda y apoyo en todo como una familia en esta ciudad también a **Adelita, Lic. Maricela Mancilla, Lic. Diana Castro,** gracias por su ayuda y compartir conmigo su calidez como persona.

Dr. Miguel A. Capó Arteaga. Por ser una persona amable, sencilla, y por el apoyo otorgado para la asistencia a los congresos. Realmente es un ángel como persona.

Laboratorio de Fitopatología: **Cris Sánchez** por todo, como siempre una súper excelente persona, siempre recibiendo su alegría su sonrisa y ayuda un ejemplo de su calidez a seguir, simplemente admirable como persona y profesionista.

Dr. Raúl Villegas. Y Gaby Recio. Por su apoyo y ayuda en mucho.

Profesor **Víctor Manuel Sánchez Valdés,** por el apoyo otorgado para la realización de mi estancia.

Mc. Juan Manuel Cepeda Dovala. Por su Apoyo otorgado para la asistencia a los congresos.

Ivonne Torres Acosta. Agradecida contigo por mucho.

A Paulina Vega y Jorge San Juan. Por su ayuda y aprendizaje en mis inicios en el laboratorio.

Dra. Adriana Flores. UANL. Bety, Nalleli, Lucio, Gabi, Selene, Quetzali, a las dos Brenditas, Melanie e Irma. A todos ellos por hacer de mi estancia una experiencia y aprendizaje muy agradable.

Escuela Primaria Rural Miguel Hidalgo. Por confiar en mí fue una enseñanza recíproca mis niños fueron muy generosos conmigo pero sobre todo muy divertido.

Escuela Primaria Ignacio Mariscal, Escuela Primaria Ignacio Zaragoza, Secundaria Técnica. 12 y CEB 5/7. Muchas gracias por su estancia.

Estoy agradecida por todo lo que han hecho por mí, espero realmente poder ayudarlos algún día, más de lo que ustedes me ayudaron.

DEDICATORIAS.

A mis dos bombones **Jesucristo** y **Jehová** los amo por darme su mano generosa y no soltarme, por abrazarme siempre, y cuidar de mí a cada paso, gracias por el nuevo día y por todas las cosas que he de agradecer a la vida.

A mi sorprendente **familia**: a mamá **Francisca Martínez Rodríguez** y a papá **Daniel Reyes Sánchez** y con ustedes a mis 4 Reyes **Giovanni, Armando de Jesús, Ángel Daniel, Mario**, a pesar de estar separados son parte de mí y Dios adorado me volvió a dar la oportunidad de estar de nuevo juntos como niños y a dos Reyes más que se fueron antes de poder conocerlos. A mis súper mega preciosas (os) **sobrinitas y sobrinitos** de menor a mayor **Mateito N, Brianita, Paolita, Génesis G., Danielito I y Melanie A.**, nada está mal cuando ustedes sonríen y a los que vengan gracias por rodearme de alegría y de luz cada vez que respiro. A cada una de mis cuñadas.

Tías, tíos sin excepción.

Primas(os): **Guille, Pera, Juanita, Nere, Gaby, Chave, Caro, Lety, Yolis, Eli, Lalo, Luis, Julián, Ramón, Kristian, Carlangas, Edwizzy, Robert, Levi, Juanito, Samuel, Toni, Frank.**

Los quiero mucho, Dios sabe que muchísimo.

A **mis amigas (os)** por su cariño, ayuda, compañía y alegría.

Del Inter: **Albita Hernández, Toñita Castro** y a su bebé mi gordo precioso, **Idalia, Lidia, Clau, Nanci** y su lindo bebé, **Angi, May, Amalia** espero poder ayudarlas y continuar con la amistad y cariño.

Generación CX y Generación CXII de Parasitología. A todos sin excepción.

En la universidad; **Yuli, Florecita, Rebe, Fer, Brenda, Esperanza, Pris, Mary, Pa, May.**

Saltillo: **Fabi, Brenda, sra Lupe, Paukis, Dani, Lalito, Laura.**

Oaxaca: **Yesi, Lupita, Bere, Yolis, Nohemi, Irma, Fabi, las dos Eli, Ofe, las dos Eva, Lore, Mardalia, July, Anahi, Cira, José, Hernán, Fer, Alex, Oscar, Julio, Mario, Chui, Cesar, Jhonatan, Miguel, Sele, Edith, Noe. A mi amiguito de la infancia Fredy** no sé dónde estás ahora pero espero que este bien.

Homestead Fl.: **Katia, Daniel, Dra. Xiao, Liao, a los dos José, Ian, Dr. Moses, Ana, Elizabeth, B. Mervice y Ryan.**

A todos sin excepción y a los que están por venir, a todos gracias.

Mi necesidad aquí ha sido atendida y el trabajo de cada uno de ustedes hacia mí hecho, me hicieron reír, aprender, conocer, gracias por su amistad, ayuda gracias por haber sido parte de mí, y sé que continuara así.

Toda historia tiene un final...

...pero en la vida...

... cada final es un nuevo comienzo.

RESUMEN.

Se muestreó la población de *Zelus longipes* en un área de 7.16 m² de jardín compuesta de plantas de *Murraya paniculata*, con altura de 1.14 m, con el objetivo de determinar su densidad de población y su efecto como factor de control de poblaciones de *Diaphorina citri*; para esto se realizaron tres conteos durante el día (8-9 AM, 11-12 AM, 4-5 PM) Se contabilizaron adultos y ninfas de diferentes instares. También se evaluó en laboratorio la capacidad de *Z. longipes* como depredador en estado adulto y ninfa de 1^o instar contra huevos, ninfas y adultos de *D. citri*. Para las observaciones en depredación, se utilizaron frascos con plantas de *M. paniculata* como hospedero donde se colocaron de manera separada huevo, ninfa en diferentes instares y adultos de *D. citri*, posteriormente se colocó un adulto o ninfa 1^o instar de *Z. longipes* según el tratamiento. La actividad de depredación se registró durante 8 días consecutivos contabilizando número de *D. citri* depredadas. Los resultados obtenidos de las observaciones en la población de *Z. longipes* mostraron que la población observada estuvo constituida por un 40.9% de ninfas de diferentes instares y 59 % de adultos. Se observaron más individuos de *Z. longipes* en el periodo de 8-9 AM, posteriormente en el de 4-5 PM y finalmente de 11-12 AM con porcentajes de 38.9%, 31.8% y 29.1 % respectivamente. En los resultados de depredación, *Z. longipes* en ninfa de 1^o instar consumió 8 % de adultos, 6% ninfas y 2% de huevos del 100% de *D. citri* proporcionados en las jaulas para consumo. Los resultados de depredación de *Z. longipes* en estado adulto demostraron que consumen 33 % de adultos, 4 % ninfas y 1 % de huevos de *D. citri*. También se evaluó la mortalidad causada por el hongo *Hirsutella citriformis* en adultos y ninfas de diferentes instares de *D. citri*, utilizando 4 métodos de aplicación; exposición a insectos micosados por *H. citriformis*, infección por contacto directo de *H. citriformis* cultivado en medio PDA sin producción de sinemas, suspensión de conidias en agua, e infección por contacto con sinemas producidos in vitro de *H. citriformis*. Se evaluó la mortalidad diariamente de 8 a 14 días, dependiendo de la forma de aplicación. Como última evaluación se sembró *H. citriformis* en granos de trigo, avena y arroz en botellas de cristal y bolsas de plástico para observar el desarrollo del hongo en estos sustratos.

En la producción de *H. citriformis* en bolsas con granos de trigo, se obtuvo una producción de 7.6×10^6 conidias por gramo de sustrato, la producción de botellas con granos de arroz, trigo y avena se obtuvo una producción de 3.2×10^7 , 4.9×10^7 , 5.9×10^7 por gramo de sustrato en el orden del grano.

La mortalidad causada por las diferentes aplicaciones *H. citriformis* fue de 91% de mortalidad a los 9 días cuando la infección fue causada por contacto de sinemas de *H. citriformis*; en la infección por contacto directo de *H. citriformis* en PDA la mortalidad fue de 72%. En ninfas de estadios diferentes de *D. citri* se obtuvo una mortalidad del 95% después de 8 días de la infección.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, depredación, *Zelus longipes*, mortalidad, *Hirsutella citriformis*.

ABSTRACT

It observed a garden area consists of plants *Murraya paniculata* with the following measures, with plant height of 1.14 m and an area of 7.16 m, in order to determine the population density of *Zelus longipes*, and their efficiency as the main factor to decrease populations *Diaphorina citri*, were made during the day three observations made of 8-9 am, 11-12 am and 4-5 pm were counted, unknown age adults and nymphs of different instars .Also evaluated in the laboratory the ability of *Zelus longipes* as a predator in adult and nymph 1 against the three biological states *Diaphorina citri*. To carry out the observations of predation, were used bottles with plants *M. paniculata* as a host where they were placed in form separate eggs, nymphs at different instars and adults of *D. citri*, was put an adult and nymph 1 of *Zelus longipes* in form separated by treatment. The results on predation were observed for 8 consecutive days counting the number *D. citri* depredated.

Was also evaluated mortality caused by the fungus *Hirsutella citriformis* in adults and nymphs of different instars of *D. citri*, evaluated 4 methods of application; Insect Exhibition with infested by *H. citriformis*, infection by direct contact of *H. citriformis* in PDA, *H. citriformis* a dilution in water, contact infection of *H. citriformis* with sinema. The mortality was assessed daily for 8 to 14 days depending on the application form. And as a final assessment *citriformis Hirsutella* were seeded in wheat grains, oats and rice in glass bottles and plastic bags.

The results of the observations in the population of *Zelus longipes* showed that the maximum population was observed in nymphs of different instars with 59% and 40.9% in adults, *Z. longipes* was observed more in the morning, noon ,finally at afternoon and with rates of 38.9%, 29.1% and 31.8% respectively.

Results in predation, in nymph 1of *Z. longipes* discloses that reached their highest rates were of 8%, 6% and 2% on adult, nymph and egg of *D. citri*, respectively, the results of predation *Z. longipes* adult show 33 %, 4% and 1% , in *D. citri* adult, nymph and egg .

In the production of *H. citriformis* in bags with grains of wheat, we obtained an output of 7.6×10^6 conidia per 1 gram of substrate, production in bottles with grains of rice, wheat and oats yielding we obtained an output of 3.2×10^7 , 4.9×10^7 , 5.9×10^7 per gram of substrate in the order of the grain.

Regarding the mortality caused by different applications of *H. citriformis* the best results were observed in adult of *D. citri* infection caused by contact with synemmata of *H.citriformis* with 91% mortality at 9 days, then the infection by direct contact of *H. citriformis* in PDA with 72%, and for nymphs of different instars of *D. citri* was obtained a mortality of 95% in 8 days.

Key words: *Diaphorina citri*, predation, *Zelus longipes*, mortality, *Hirsutella citriformis*.

INTRODUCCIÓN.

Los cítricos son las frutas de mayor importancia a nivel mundial, ya que representan alrededor del 22% de la producción total de frutas; le siguen los plátanos, otras frutas tropicales y las pomáceas. En la Fig.1 se observa que la producción mundial de naranjas contribuyó con el 55 % del total de cítricos (177 millones de toneladas), en 2007, siguiéndole la mandarina, (24%) %, limas y limones (11%) la toronja (4%) y otros cítricos con el 6% restante. (FAO, 2009).

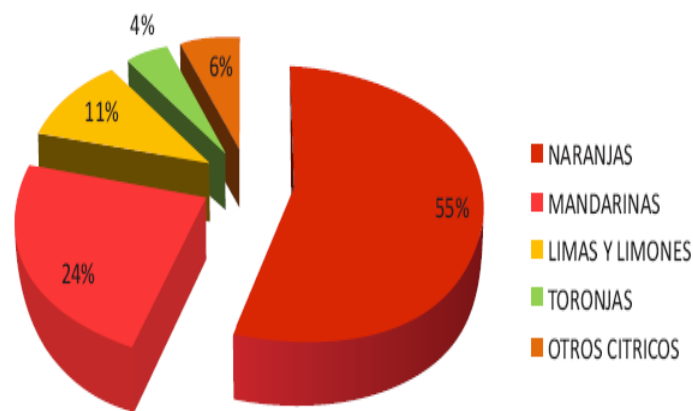


Figura 1. Producción mundial de cítricos FAO, 2009.

China es el principal productor de mandarina, clementina y tangerina; India de lima y limón; Brasil de naranja; mientras que Estados Unidos de toronja. Para el conjunto de cítricos, México ocupa el cuarto lugar en la producción a nivel mundial después de China, Brasil y Estados Unidos (SIAP, SAGARPA, 2009).

México destaca en tercer lugar en producción de naranja, en producción de Limón se encuentra en segundo lugar detrás de la India, para el caso de toronjas y pomelos se coloca detrás de Estados Unidos, China y Sudáfrica (Diznarda, 2010).

Sin duda los cítricos constituyen uno de los Sistemas Producto más importantes, que intervienen decisivamente en la economía de los estados de Veracruz, San Luis Potosí, Tamaulipas, Nuevo León, Colima, Oaxaca, Tabasco, Yucatán, Sonora, entre otros (Fig. 2).El HLB es la enfermedad más devastadora hasta ahora para los cítricos del mundo (INCA Rural / SAGARPA 2011

No existe a la fecha un método de control para esta enfermedad; el único tratamiento consiste en eliminar los árboles infectados y controlar al vector (CNAS, 2007), básicamente suprimiéndolo con insecticidas (Sparks, 2008). De aquí radica la importancia de controlar tanto la *Diaphorina citri* como la enfermedad que transmite (FAO, 2009).

El Huanglongbing (HLB) ha ocasionado la muerte de 23 millones de árboles de naranja y mandarina en Asia; 10 millones en África; 3 millones en Brasil y 450 mil árboles en los Estados Unidos (SENASICA, 2011).

El HLB se localiza en algunas zonas citrícolas de países de Asia y África, en Cuba, República Dominicana, Brasil y Belice y México, así como en los estados de Florida, Luisiana y Carolina del Sur en Estados Unidos.(SAGARPA, 2011)

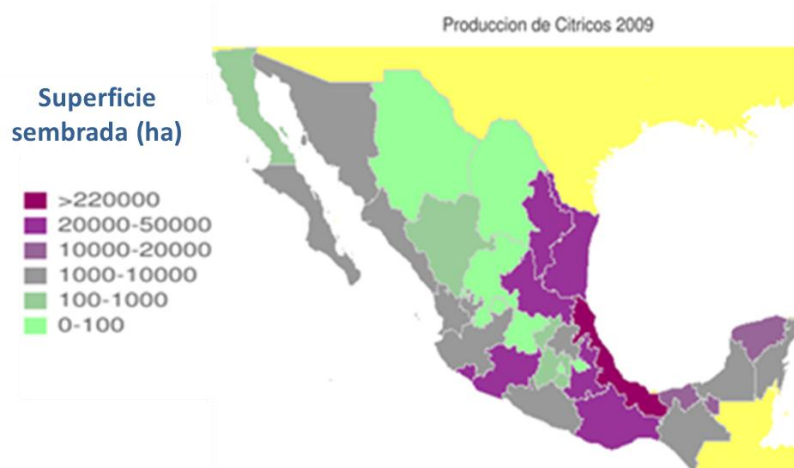


Figura 2. Producción y superficie sembrada en México en el 2009.

La bacteria (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) causante del HLB se ha detectado en los siguientes estados (Fig. 3): Yucatán (6 de Julio 2009); Quintana Roo (14 agosto, 2009); Nayarit y Jalisco (1º de Diciembre, 2009); Campeche (17 marzo, 2010); Colima (15 abril, 2010); Sinaloa (2 Junio, 2010), Michoacán (10 de Diciembre, 2010) y recientemente Chiapas (1º de Marzo, 2011). (SENASICA, 2011).

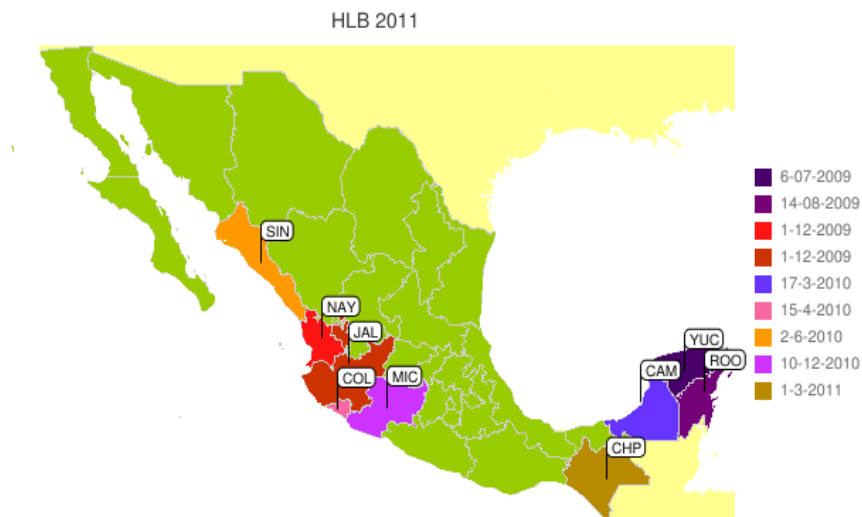


Figura 3. Distribución de Huanglongbing (HLB) en México, 2011.

De manera clara, realista y objetiva se consideran como muy severos los daños económicos que esta enfermedad causaría, razón por la cual es urgente implementar una alternativa de control, considerando como objetivo clave el control del insecto *D. citri* como principal vector que propaga la enfermedad. Por lo tanto el manejo integrado es la forma más racional de luchar contra este insecto plaga. Dicho manejo consiste en la combinación e integración de todas las técnicas disponibles para aplicarlas en forma armoniosa e impidiendo daños de importancia económica a los cultivos (Bellotti *et al.*, 2002).

Dentro del manejo integrado se presenta el control biológico y el control microbial como alternativas para el control de este insecto, donde se analiza el uso de enemigos naturales (fauna benéfica) tal como la chinche *Zelus longipes* y de microorganismos entomopatógenos como es el caso de hongos específicamente de *Hirsutella*, considerando el manejo ecológico de los recursos, y evitando la contaminación ambiental, logrando verdaderamente un manejo sustentable.

1. Muestrear la población de *Zelus longipes* y determinar su fluctuación en ninfas y adultos.
2. Evaluar la capacidad depredadora de adultos y ninfa 1 de *Z. longipes* sobre adultos, ninfas de diferentes instares y huevos de *Diaphorina citri* en condiciones de laboratorio.
3. Comparar la producción de *Hirsutella citriformis* en tres diferentes sustratos y determinar el mejor sustrato para la producción de conidias.
4. Evaluar la mortalidad de *D. citri* en 4 métodos de aplicación de *H. citriformis*.

LITERATURA REVISADA.

Clasificación taxonómica de *Diaphorina citri*.

Se han reportado cinco especies de *Diaphorina* en Cítricos: *D. punctulata*, *D. zebrana* en Swazilandia (África), *D. auberti*, *D. amoena* en Islas Comoros y *D. communis* en la India, aunque estas son consideradas de poca importancia como vectores del HLB.

Sin embargo *D. citri* es reportada como el vector más eficiente de esta enfermedad (Tsai *et al.*, 2002) y es la que a continuación se describe:

Orden: Hemiptera.

Suborden: Sternorrhyncha.

Superfamilia: Psylloidea.

Familia: Psyllidae.

Género: *Diaphorina*.

Especie: *Diaphorina citri* Kuwayama.

(Triplehorn y Johnson, 2005)

Kuwayama describió a la especie por primera vez en 1907, de especímenes obtenidos en Shinchiku, Taiwán.

Descripción de *Diaphorina citri*.

Tal como se observa en la Fig. 4, los adultos miden de 3-4 mm de largo, cabeza café, cuerpo café moteado, ala anterior más amplia con la mitad apical, con manchas, y con una banda de color café que se extiende alrededor de la periferia de la mitad exterior del ala, la banda ligeramente interrumpida cerca del ápice; antenas con la punta negra y dos pequeña manchas cafés en los segmentos medio, cubiertos de secreción blanquecina y cerosa (Cermeli *et al.*, 2000).



Figura 4. Adulto de *Diaphorina citri* Kuwayama.

Los huevos son de forma ovoide con prolongación en las puntas, de color amarillo anaranjado y miden aproximadamente de 0.3 a 0,2 mm de longitud. Recién colocados son de color amarillo claro, tornándose anaranjados próximos a eclosionar. Estos son puestos en el extremo de los ápices de los brotes o en los primordios foliares (Fig. 5); apareciendo con frecuencia un gran número de huevos en una misma rama. Las hembras son capaces de ovipositar hasta 800 huevos durante toda su vida. (Chavan y Summanwar, 1993)

Los huevos recién ovipositados son de color amarillo mate se tornan de amarillo naranja a medida que se acerca el momento de la eclosión, tienen forma almendrada y son colocados en el brote joven, cuando está en fase de punta de lanza (Chiou-Nan Chen, 1998; Etienne *et al.*, 2000; Fernández, 2005).

La cantidad de huevos depositados depende de la planta hospedante, por ejemplo, en toronja se ha encontrado una media de 857 huevos por hembra, mientras que en limón es de 572. Cuando la temperatura es de 25 °C la eclosión de los mismos ocurre a los 4 días (Chiou-Nan Chen, 1998, Y.H. y Tsai, H. 2000).

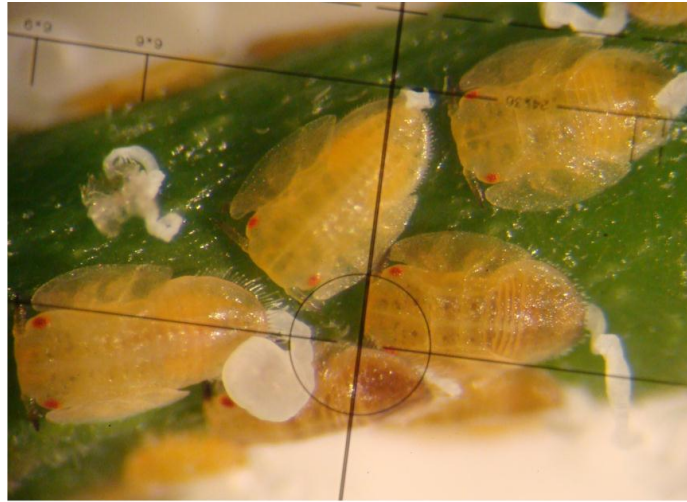
En condiciones de insectario a 25- 26 °C las hembras depositan 8 huevos diarios y el desarrollo ninfal toma 11-15 días, el desarrollo desde huevo hasta adulto requiere de 16 a 17 días a una temperatura de 25° C. (EPPO, 2007).



Universidad Antonio Narro, Ana Reyes Mtz.

Figura 5. Huevos de *D. citri*.

Las ninfas tienen 5 instares los cuales son finalizados de 11 a 15 días; estas ninfas son aplanadas dorsoventralmente, de color anaranjado amarillento, el primer instar del insecto mide 0.25 mm de longitud y el último de 1.5 a 1.7 mm, sin manchas abdominales, con esbozos alares abultados (Fig. 6)



Universidad Antonio Narro, Ana Reyes Mtz.

Figura 6. Ninfas de *D. citri*.

Son sedentarias, forman colonias con un número de individuos variable, hasta cientos. Las ninfas del quinto estadio dan lugar a adultos machos y hembras. Todo el ciclo de vida del insecto toma entre 15 a 47 días, dependiendo de la temperatura (Chavan y Summanwar, 1993)

Biología y ecología de *Diaphorina citri*.

Estos insectos se alimentan por el envés de las hojas, aunque cuando hay altas poblaciones, se les puede observar formando grupos tanto en el haz como en el envés. En el adulto se les puede reconocer por la posición que adoptan durante la alimentación, donde la cabeza está pegada a la superficie de la hoja, mientras que el extremo distal del cuerpo está levantado, formando un ángulo de 30 a 45 ° con respecto a la superficie (Grafton- Cardwell, 2007).

Los adultos se muestran activos cuando son molestados y realizan saltos cortos de una hoja a otra (Etienne *et al.*, 2001). El rango óptimo de temperatura para el desarrollo del psílido está entre 25-28°C. (Liu y Tsai 2000).

El aparato genital permite la distinción entre los sexos. El dimorfismo sexual, a pesar de no ser muy acentuado, permite distinguir al macho de la hembra por presentar los ojos compuestos más rojizos y el abdomen pequeño (Fernández *et al.*, 2005).



University of Florida, Ana Reyes Mtz.

Figura 7. Ninfas de *D. citri* con excretas (mielecilla) conocidas comúnmente como salerillo.

Se señala una longevidad promedio para la hembra de 39.6 a 47.5 días a una temperatura de 25°C, con la característica particular de que en ocasiones pueden vivir por varios meses esperando hasta que llegue el periodo de brotación de las plantas hospedantes. 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. Un día después del apareamiento comienza la oviposición, caracterizando el abdomen de la hembra con una coloración de amarillo a naranja brillante. (Etienne *et al.*, 2001).

Los adultos se pueden encontrar en condiciones naturales durante todo el año, depositando huevos donde quiera que haya brotes disponibles. A causa de la corta duración del ciclo del desarrollo, pueden observarse rápidamente numerosas ninfas que dan lugar a los adultos, los cuales se presentan en una menor cantidad,

en virtud de que se mueven hacia otros brotes para depositar sus huevos luego de la cópula y continuar la infestación. Otro elemento a resaltar es que existe buena sincronización entre el desarrollo de brotes y el ciclo de vida de estos insectos, por lo que los brotes en crecimiento constituyen un factor fundamental en el comportamiento de la especie (Fernández, *et al.*, 2005).

Este psílido no tiene diapausa y sus poblaciones declinan en los periodos en que las plantas no están en brotación. Tanto las altas como las bajas temperaturas son perjudiciales para el incremento de su densidad poblacional (Atwal, 1968).

El HLB y sus síntomas en cítricos

El Huanlongbing (HLB) es una enfermedad infecciosa y mortal de los cítricos causada por la bacteria fastidiosa, *Candidatus Liberibacter asiaticus*, que es transmitida por *Diaphorina citri* al alimentarse de la savia de sus plantas hospederas.

Los síntomas más frecuentes en son el moteado asimétrico difuso en hojas, brotes cloróticos, frutos deformados con la columela torcida, semillas abortadas y rojizas, pedúnculo hundido y haces vasculares de color amarillo intenso (Fig. 8). En menor frecuencia se observan deficiencias nutricionales, aspecto esparcido de la copa, hojas con nervios engrosados o necróticos y caída de frutos.



Figura 8. Síntomas característicos del HLB en cítricos.

Plantas hospederas de *Diaphorina citri* y de *Candidatus Liberibacter*.

Existen numerosos hospederos de *D. citri* y de la bacteria que transmite (*Candidatus Liberibacter*), sin embargo en los que se ha reportado con los síntomas más graves son en naranjos (*Citrus sinensis*), mandarinas (*Citrus reticulata*) y tangelos (*Citrus reticulata*), los síntomas menos graves se manifiestan en los limones (*Citrus limon*), toronjas (*Citrus paradisi*, *Citrus limonia*, *Citrus limettioides*) (McClellan & Schwarz, citados en EPPO 1990).

Otros autores afirman que los síntomas se expresan de forma más severa en los siguientes hospederos; naranja dulce (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck), mandarinas (*Citrus reticulata* Blanco) y tangelos; moderados en *Citrus grandis* [L.] Osbeck, limones (*Citrus limon* [L.] Burm) y naranja agria (*Citrus aurantium* L.), mientras que las afectaciones son pocas o inexistentes en naranja trifoliata con sus híbridos, lima mexicana (*Citrus aurantifolia* [Christm.] Swingle) y toronja o pomelo (*Citrus paradisi* Macfad); sin embargo, se han encontrado reportes de afectaciones importantes en casi todos los cultivares en diversas regiones del mundo (INISAV, 1999).

Otros hospederos en los también se ha observado; *Cuscuta australis* R. Br. (Convolvulaceae, Cuscutaceae) *Fortunella* spp. *Limonia acidissima* L. *Microcitrus australasica* (F.J. Muell.) Swingle *Murraya koenigii* (L.) Jack, *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr., *Toddalia lanceolata* Lam, *Triphasia trifolia* (Burm. f.) P. Wilson.

Sin embargo de todos los hospederos antes mencionados, la planta preferida de *D. citri* es *Murraya paniculata*, los nombres comunes de esta planta son Jazmín naranja, *Murraya*, Azahar de la India, Mirto o Limonaria.



Figura 9. Flores, hojas y frutos de *M. paniculata*.

La *M. paniculata* es un arbusto de uso ornamental del grupo de los cítricos, (Fig. 9). Tiene flores aromáticas y produce frutos pequeños de color rojo cuando maduran. Debido a que se presenta en zonas urbanas, la limonaria no ha tenido la atención que requiere, pues gran parte de los recursos y la prioridad en investigación, se ha orientado a los cítricos en zonas agrícolas. Sin embargo, es muy importante conocer el papel desempeña en la epidemiología del HLB como reservorio del vector y el patógeno. Los síntomas del HLB en la limonaria ver Fig. 10. son similares a los que ocurren en cítricos, es decir, aparece un moteado difuso de las hojas.



Figura 10. Síntomas de HLB en *Murraya*.

Agentes de control biológico de *Diaphorina citri*.

Se han reportado diferentes formas de control natural dentro de los cuales destacan parasitoides, depredadores y hongos.

Depredadores: Donde quiera que *D. citri* se produce, es comúnmente atacado por depredadores generalistas como: mariquitas (Coleóptera: Coccinellidae); sírfidos (Díptera: Syrphidae), crisopas (Neuróptera: Chrysopidae, Hemerobiidae) (Aubert 1987, Michaud 2001, Michaud 2002, Michaud 2004, González *et al.*, 2003, Miranda-Salcedo Y López-Arroyo, 2010). Arañas (Araneae) (Al-Ghamdi, 2000).

En México se ha reportado *Olla v-nigrum*, *Hippodamia convergens*, *Cycloneda sanguinea*, *Brachiacanta decora*, *Harmonia axyridis*, *Chilocorus cacti*, *Exochomus cubensis*, *Scymnus distinctus*, *Curinus* sp, *Chrysoperla* spp y *Ceraeochrysa* spp (Martínez Carrillo y Cortez Mondaca, 2008).

No se conoce el grado en que estos depredadores pueden reducir las infestaciones de *D. citri*, pero algunos son considerados como importantes agentes de control biológico.

Parasitoides: *Tamarixia radiata*, *Tamarixia triozae*, *Tamarixia dryi* son ectoparásitos cuyas larvas se alimentan a expensas de las ninfas de *D. citri* debajo de su cuerpo pupan y tejen un capullo adherido a la superficie de la hoja y emergen a través del integumento del huésped. La biología de *T. radiata* y su cría masiva fue estudiada por Ching-Chin Chien *et al.*, (2006) en Taiwán y por Liu, y .H. Y Tsai, H. (2000).

Hasta el momento no se han registrado parasitoides en huevos ni adultos de *D. citri* parecen ser bastante libres de enemigos naturales en cuanto a parasitoides (Husain y Nath, 1927)

Hongos Entomopatógenos; Estos hongos se han aislado y determinado causando epizootias en diferentes partes del mundo, *Hirsutella citriformis* Speare, *Isaria fumosorosea* Wize (*Ifr*) (*Paecilomyces fumosoroseus*), *Beauveria bassiana* (González *et al.*, 2001., Cabrera *et al.*, 2001, Meyer *et al.*, 2007, Senasa, 2010).

Clasificación taxonómica de *Zelus longipes*.

Reduviidae es la segunda familia más grande de Heteroptera con más de 6000 especies descritas (Maldonado C.J.1990).

Los miembros de Harpactorinae son comúnmente asociados con los cultivos de plantas y algunos han sido estudiados como agentes de control biológico de plagas en los cultivos (Grundy y Maelzer 2000, 2003, Grundy *et al.*, 2000; Jahnke *et al.*, 2003; Nishi *et al.*, 2004; Chandral *et al.*, 2005; Grundy 2007, Ishikawa *et al.*, 2007).

Order Hemiptera

Suborden: Heteroptera

Familia: Reduviidae

Subfamilia: Harpactorinae

Género: *Zelus*

Especie: *Zelus longipes* (Linnaeus, 1767).

Distribución de *Zelus longipes*

Z. longipes Linneo es comúnmente llamado la chinche asesina. Los miembros del género *Zelus* son diurnos. Son depredadores generalistas se alimentan de una amplia gama de insectos de cuerpo blando, en jardines y campos algunos ejemplos de éstos son mosquitos, moscas, lombrices, escarabajos, y diversas orugas.

Z. longipes está ampliamente distribuida en el sur y norte de América (Costa del Golfo y los estados del Atlántico Sur, California sur y el suroeste de Arizona en los Estados Unidos), América Central, América del Sur (excepto Chile) a través del centro de Argentina, y las Indias Occidentales (Hart 1986, Melo 2005, Wolf & Reid 2001, Cogni *et al.*, 2000).

Ciclo de vida y descripción de *Zelus longipes*.

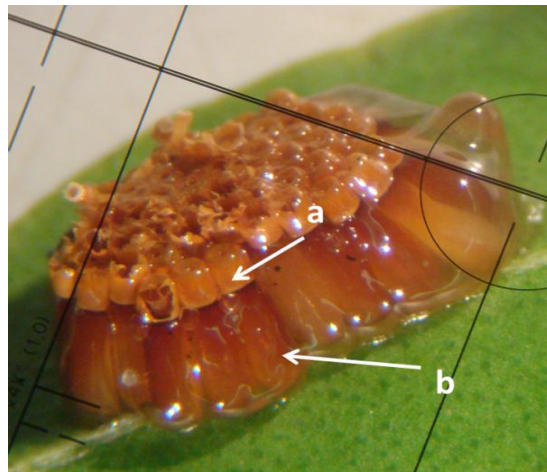
Adultos y ninfas tienen una cabeza en forma de pera, patas peludas y cuello estrecho y largo. El aparato bucal tiene un pico de tres segmentos de succión, que cuando está en reposo se dobla. Su población es de color naranja y negro. Los machos (figura 11) son más pequeños que las hembras.

En California y Arizona, los machos miden en promedio de 16,1 mm y las hembras 18,4 mm de longitud, mientras que en las poblaciones de la Costa del Golfo, tienen un promedio de 16,8 mm y 18,2 mm, respectivamente. En las hembras, el segmento terminal del abdomen es aplanado, mientras que en los machos es de forma de copa redondeada (Hart, 1986).



Figura 11. Adulto de *Zelus longipes*.

Huevo: Estos son cilíndricos y alargados, de color café, tiene un poro central con una abertura en forma de embudo.



Ana Reyes Mtz.

Figura 12. Huevos de *Z. longipes*.

El huevo se puede dividir en dos partes Fig.12: el opérculo a) que se adjunta en el polo anterior del huevo y b) cáscara de huevo principal o corion (Wolf & Reid 2000). Cada huevo tiene medidas de 2.0 a 2.3 mm de longitud total, mientras que el apéndice es de 0,5 mm de largo. El resto de la cáscara de huevo principal mide 1,5 mm de longitud. La cáscara de huevo principal más amplia se encuentra en el polo posterior mide 0,53 mm y se estrecha cerca del polo anterior midiendo 0,32 mm. El polo anterior es plana y poseen una forma de cintura. Visto de lado, la cáscara de los huevos parecen tener ligera curvatura hacia dentro (Wolf y Reid, 2000).

Ninfas: Estas pasan por cinco estadios ninfales antes de llegar a ser un adulto. En la Fig. 13 se observan ninfas de primer estadio: El cuerpo es alargado con un cuello diferenciado y es de color café claro, que mide 2.61 mm de longitud. La cabeza es de forma piriforme, que mide 0.8 mm de longitud y 0.50 mm de ancho, con pelos dispersos. Los ojos prominentes de color café rojizo son 0.22 mm de ancho (ocelos ausentes).

Las antenas son filiformes y con setas, y 3.98 mm de largo. Las patas son de color café oscuro, a excepción de la coxa que es de color café claro. El abdomen es de color café oscuro a naranja, con unos pocos pelos en los últimos segmentos. (Melo *et al.*, 2005).

Segundo estadio: El cuerpo es más alargado con 4.26 mm de longitud, de color café pálido y tinte de color naranja. La cabeza es más alargada, 1.08 mm de largo y 0,67 mm, en comparación con el estadio anterior. Las patas son de color negro con coxa de colores claros. El abdomen es redondeado y con setas débilmente visibles. Las almohadillas que formarán las alas se hacen presentes, y son de color café oscuro a negro aproximadamente de 0,35 mm de largo (Melo *et al.*, 2005).

Tercer estadio: El cuerpo es alargado y mide 5.73 mm de largo (Melo *et al.*, 2005). La cabeza es de 1.56 mm de largo y 0.78 mm de ancho. Las antenas son de 7.5 mm de largo, con color y bandas similares al estadio anterior. Piernas y alas son del mismo color que el estadio anterior.

Cuarto estadio: Su longitud corporal total es de 7.14 mm. El ancho de la cabeza es de 0,97 mm y 2,05 mm, respectivamente. Longitud antenales ahora es 10.23 mm, mientras que las antenas son de color negro y tienen dos bandas distales pálidas. Los segmentos antenales segundo y tercero poseen muchas setas. (Melo *et al.*, 2005).



Figura 13. Ninfas de 1 instar de *Z. longipes*.

Las patas son de color negro con tres bandas pálidas, una en el fémur anterior y dos en los fémures medios y posteriores. Las almohadillas de las alas son de color negro, y miden 1.37 mm de longitud. El abdomen es más alargado y con más setas en comparación con los estadios anteriores, las medidas de longitud miden de 2.67 a 0.65 mm de ancho. La parte posterior es de color amarillo con manchas negras dorsales prominentes presente en el esternitos VI y VII.

Quinto estadio: El cuerpo es alargado de color naranja, que mide 11.29 mm La longitud de la cabeza es de 2.77 mm y 1.26 mm de ancho. Los ojos son brillantes. Las antenas miden de 14.56 mm de longitud, son similares a estadios anteriores en lo que respecta al color, patrones de bandas, y setas. El segundo segmento de la antena tiene cinco tricobotrias (setas alargadas, no cónica), mientras que los otros tres segmentos tienen abundantes setas. El abdomen es de color naranja, y miden 4.97 mm de largo y 1.77 mm de ancho. Los bordes del abdomen muestran finas rayas de color blanco-amarillo. (Melo *et al.*, 2005).

Importancia económica.

El Género *Zelus* 1803, es uno de los géneros de la subfamilia Harpactorinae más diversificado en las regiones Neártica y Neotropical (Maldonado Capriles, 1990; Schuh y Slater, 1996). Es considerado como un depredador de plagas agrícolas (Gravena 1983, Bueno y Berti 1991) siendo *Z. longipes.*, un depredador voraz durante todo su ciclo de vida (Unigarro 1958).

Aunque estos depredadores son considerados polífagos por ser menos específicos en la selección de su presa, podrían ser utilizados para reducir o inclusive evitar las reinfestaciones de muchas especies de plagas; tal es el caso de la *D. citri*.

Taxonomía de *Hirsutella citriformis* Speare.

Clase: Ascomycota

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Clavicipitaceae

Género: *Hirsutella*

Nombre científico: *Hirsutella citriformis* Speare 1920.

Descripción de *H. citriormis*.

Hongo entomopatógeno, parásito obligado en forma natural .El micelio en el hospedero se observa de color café a gris, que cubre los cadáveres de los insectos y se une al sustrato donde se encuentre. Produce generalmente fructificaciones macroscópicas llamadas sinemas, formadas por haces compactos de hifas longitudinales (Figura 15).

Los sinemas son cilíndricos y pueden medir 12 mm de largo, con 0.2-0.3 mm de ancho, a veces simples, o con ramificaciones laterales cortas, compuestos por un paquete compacto de hifas longitudinales, formando una capa compacta sobre la superficie. Las fíalides surgen como células laterales o a veces como células terminales en forma de ramas laterales cortas de las hifas, en la parte superior del sinema a veces se ve inflado, subglobuloso y elipsoide, pero más frecuentemente atenuado.

Hospederos de *H. citrifomis*.

Se ha registrado en diferentes hospederos principalmente en adultos de Hemiptera: Fulgoridae en Nueva Zelanda, *Perkinsiella saccharicida* en Puerto Rico, *Ricania discalis* y *Siphanta acuta*, en Hawaii.

El hongo *H. citrifomis* ha sido reportado infectando a *D. citri* alrededor del mundo tal como lo menciona Rivero-Aragón y Grillo Ravelo (2000). En Indonesia (Subandiyah *et al.*, 2000), Estados Unidos (Meyer *et al.*, 2007) en Cuba (González *et al.*, 2000, Cabrera *et al.*, 2001) y en México (Senasa, 2010, González *et al.*, 2008).

Distribución geográfica: África, Asia, América, Nueva Zelanda, Hawaii y las Islas Salomón.

MATERIALES Y METODOS.

Localización.

La investigación sobre *Z. longipes* se llevó a cabo en el laboratorio de Entomología de la Universidad de Florida, Tropical Research and Education Center (TREC) en Homestead, Florida, Estados Unidos.

La investigación sobre el hongo *H. citrifomis* fue en el laboratorio y la cámara de cría del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), localizado en el Municipio de Saltillo en el Estado de Coahuila, México.

Fluctuación Poblacional de *Zelus longipes*.

Durante el periodo del 24 Febrero al 15 Abril del 2011 se contaron los individuos de *Z. longipes* en un área delimitada de jardín de 7.16 m² con plantas de *M. paniculata*, con altura de las plantas de 1.14 m, dentro de la cual se hicieron 3 observaciones en diferente horas del día (8-9, 11-12 y 16-17 horas).

Establecimiento de una colonia de *Z. longipes*.

Se colectaron de campo 7 ejemplares, dentro de ellos 5 *Z. longipes* hembra y 2 machos. Para su crianza en laboratorio se utilizó una caja de cría de 30 cm de largo x 30 cm de ancho. La jaula se etiquetó con un número de insectos, hembras, machos y la fecha de inicio de la colonia.

Para alimentar a los *Z. longipes* se les suministraron adultos de *D. citri* en ramas de *M. paniculata* como hospedero, estas ramas fueron colocadas en frascos de plástico de 6 cm de largo y 3.5 de diámetro, con una capacidad de 50 ml con tapa y un pequeño orificio en la parte superior, en estos frasco se agregaron 40 ml de agua purificada para mantener la viabilidad de las plantas y poder alimentar a las *D. citri*.

Diariamente se observaron las jaulas para colectar los huevos ovipositados y posteriormente colocarlos en cajas Petri previamente acondicionados con un disco de papel (Toallas de cocina de la Marca Bounty) húmedo con agua potable para la eclosión de los huevos de *Zelus longipes*.

Las condiciones del insectario donde se mantuvo la colonia fueron a una temperatura de $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$, una humedad relativa de $70 \pm 5\%$ y un fotoperiodo de 12 h.

Bioensayo con ninfas de *Z. longipes*.

Con las crías de 1 instar de *Z. longipes* obtenidas de la colonia en laboratorio se procedió a realizar los bioensayos. Estos fueron estructurados según se observa en la Tabla 1.

En cajas Petri de 60 x 15 mm, se colocaron en su base un círculo de papel (servilletas higiénicas de cocina marca Bounty), algodón humedecido con agua purificada para conservar la humedad dentro de cada una de las cajas, posteriormente se colocó una ninfa de *Z. longipes* de 1 instar de un día de nacido y una rama de *M. paniculata* infestada con *D. citri* ya sea huevo, ninfa y adulto. (Ver tratamientos Tabla 1) .Lo anterior se mantuvo en el insectario a una temperatura de $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$, una humedad relativa de $70 \pm 5\%$ y un fotoperiodo de 12 h.

Tabla 1. Tratamientos para observación de depredación de *D. citri* por ninfas de *Z. longipes*.

Tratamiento (Tn) <i>Z. longipes</i>	Número de <i>Z. longipes</i>/jaula.	Estado biológico de <i>D. citri</i>	Número de <i>D. citri</i> expuestos
T1 Ninfa 1 instar	1	Adulto	60
Testigo	0	Adulto	60
T2 Ninfa 1 instar	1	Ninfas	40
Testigo	0	Ninfa	40
T3 Ninfa 1 instar	1	huevo	60
Testigo	0	Huevo	60

Todos los tratamientos se mantuvieron en el insectario a una temperatura que osciló entre $24 \pm 4^{\circ}\text{C}$, una humedad relativa de $70 \pm 5\%$ y un fotoperiodo de 12 h. Las evaluaciones fueron realizadas cada 24 horas por 8 días continuas.

Bioensayo con adultos de *Z. longipes*.

En estos bioensayos se utilizaron *Z. longipes* adultos colectados de campo con dos días de observación en laboratorio esto con la finalidad de comprobar el estado sano de los insectos.

Los bioensayos fueron estructurados según se observa en la tabla 2.

Los tratamientos y testigos incluyeron 20 manteniéndolos en igualdad de condiciones y utilizando los mismos materiales:

Tabla 2. Tratamientos para observación de depredación de *D. citri* por adultos de *Z. longipes*.

Tratamiento <i>Z. longipes</i>	Número de <i>Z. longipes</i> aplicados/jaula	Estado biológico de <i>D. citri</i>	Número de <i>D. citri</i> expuesto
T4 Adulto	1	Adulto	60
Testigo	0	Adulto	60
T5 Adulto	1	Ninfa	40
Testigo	0	Ninfa	40
T6 Adulto	0	Huevo	60
Testigo	1	Huevo	60

Todos los tratamientos se mantuvieron en las mismas condiciones que los bioensayos de ninfas de *Z. longipes*.

II. Observaciones con *H. citriformis*

Obtención de la Cepa de *H. citriformis*.

Para la obtención de la cepa se hicieron colectas en localidades del estado de Tamaulipas, México, principalmente en la comunidad de Gómez Farías.

En el hospedero Limonaria (*Murraya paniculata*) de 2 - 4 años de edad se cortaron ramas y hojas terminales donde se observaron *D. citri* micosados con *H. citriformis*, posteriormente se colocaron dentro de bolsas de papel de 30 cm de largo x 14 cm de ancho y se trasladaron al Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en el Estado de Coahuila.

Aislamiento de *H. citriformis*.

Los aislamientos obtenidos de *D. citri*, (Fig. 14) infectados naturalmente en campo se obtuvieron siguiendo la metodología propuesta por Goettl e Inglis 1997.

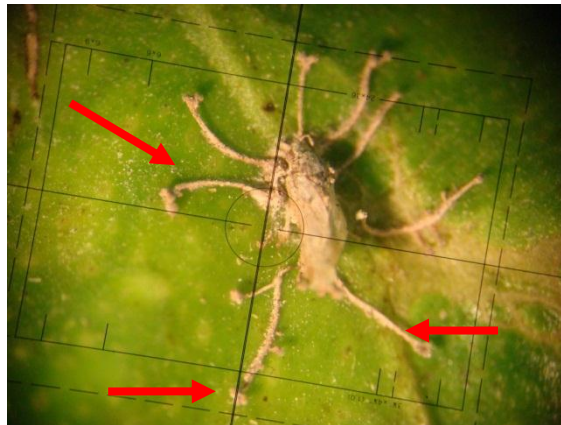
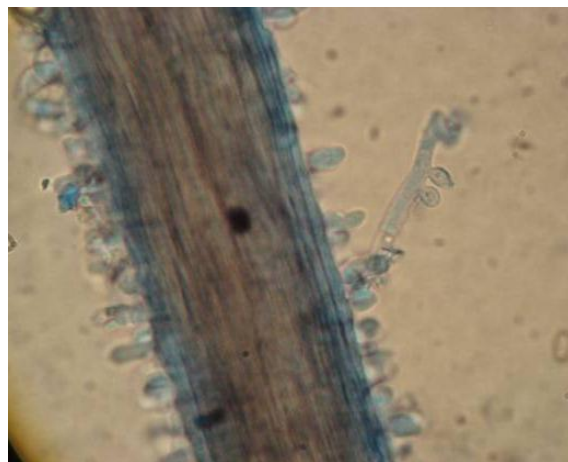


Figura 14. Crecimiento de sinemas de *H. citriformis* en adultos de *D. citri*

Ésta metodología consistió en desinfectar superficialmente el cadáver del insecto en alcohol al 70 % por 20 segundos para romper la tensión superficial, posteriormente se sumergió en hipoclorito de sodio al 5% por dos minutos y se enjuago con agua destilada estéril. El insecto se colocó sobre papel filtro para eliminar el exceso de humedad, posteriormente se colocó en cada una de las cajas Petri con medio PDA.

En la fig. 15 se observa fructificaciones en los sinemas de *H. citrifomis* hongo que hasta ahora sólo se ha observado en forma natural en adultos de *D. citri*, no en juveniles.



Rebeca Casique

Figura 15. Fotografía al microscopio de sinemas (fructificaciones) del hongo *H. citrifomis*, muestra obtenida en insectos de Gómez Farías Tamaulipas.

Las cajas petri se incubaron a una temperatura de $25 \pm 4 \text{ } ^\circ\text{C}$ en una cámara bioclimática durante 7 días, 12 horas luz y 12 horas oscuridad.

Identificación de *H. citriformis*.

Se consideraron las características descritas para identificar a los hongos entomopatógenos, como son: morfología, características de crecimiento e identidad del hospedante. (Samson *et al.*, 1988, Goettel e Inglis 1997, Humber, 1997 y Félix *et al.*, 2003)

Se observaron en un microscopio compuesto montado en un portaobjeto y teñido con azul de algodón más lactofenol.

Obtención de *D. citri*.

Los insectos utilizados se obtuvieron de colectas realizadas en diferentes localidades especialmente en los Municipios de Gómez Farías, Tamaulipas y en General Terán Nuevo León.

Producción del hongo.**Hongo utilizado.**

Cepa HC8D13 del hongo *H. citriformis*, aislada de *D. citri* de Gómez Farías.

Producción del hongo *H. citriformis* en granos de trigo como sustrato en bolsas de plástico.

La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva del hongo y sus estructuras reproductivas en un sustrato (Anderson *et al.*, 1984) Hasta la fecha se han evaluado diferentes tipos de sustratos naturales, principalmente arroz, trigo, maíz, frijol y soya pero lo más utilizados son arroz y trigo.

A continuación se describe el procedimiento utilizado para la reproducción de este hongo en granos de trigo integral.

1. Se inició con un cultivo puro producido en PDA al que se le denomina "hongo patrón" o "semilla". Se le denomina así porque de esta cepa se reproducirá las demás colonias de hongos.
2. Se utilizó trigo integral el cual se vació en un recipiente para su lavado y desinfección. Se pesó 200 gr de trigo y se le agregaron 100 ml de agua destilada, posteriormente se colocó en bolsas de polietileno opaco y se ataron. Este procedimiento realizado fue para la preparación de 1 800 gr de Trigo.
3. Se colocaron las bolsas en una olla de presión y se esterilización a 120 °C por 15 minutos.
4. Después de la esterilización, se sacaron las bolsas con el medio y se enfriaron. El trigo quedo con una textura pre-cocida y suave.
5. Se suspendió un número no determinado de esporas de la cepa en 10 ml de agua destilada, pesando 5 gramos de granos colonizados por el hongo y añadiendo estos a los 10 ml. Se agitó esta mezcla.
6. De la suspensión obtenida se tomaron 5 ml con una jeringa esterilizada, y se inyectó cada una de las bolsas. El orificio se cubrió con cinta masking tape. Se mezcló el grano en las bolsas con el objetivo de evitar aglomeraciones del sustrato y para que el inóculo se distribuyera uniformemente en los granos de trigo y obtener un crecimiento homogéneo. Este procedimiento fue hecho en la campana de flujo laminar para evitar contaminaciones.
7. Las bolsas se llevaron a una cámara bioclimática donde permanecieron a una temperatura que osciló de 18 a 30 °C y una humedad relativa de 70 %, por 7 días.
8. Para determinar la producción del hongo en el trigo, se procedió a tomar una muestra al azar de 3 bolsas inoculadas, se pesó 1 gramo por bolsa y se contabilizo el número de conidias con la cámara de Neubauer.

Producción del hongo *H. citrifomis* en granos de trigo, avena y arroz en botellas de vidrio.

Para su producción se siguieron los siguientes pasos:

1. Se utilizó granos de trigo integral, arroz integral y hojuelas de avena, los cuales se vaciaron en recipientes por separado para su lavado y desinfección. Se pesó 20 gr de cada sustrato, se vaciaron en botellas de cristal previamente esterilizadas (Botellas de cerveza de la marca Corona de 325 ml de capacidad) posteriormente se les agregaron 50 ml de agua destilada. Se prepararon 1400 gr de los diferentes sustratos.
2. Todas las botellas se colocaron en la olla de presión para su esterilización. a 120°C por 15 minutos.
3. Se sacaron las botellas con el medio y se enfriaron a temperatura ambiente. El trigo, el arroz y la avena quedaron con una textura pre-cocida y suave.
4. Se procedió a la siembra usando el hongo de las cajas petri en medio PDA, se tomó con el asa bacteriológica partes de *Hirsutella* sembrados en agar y se colocaron estos trozos en cada una de las botellas con los sustratos (granos de trigo, arroz y avena)
5. Este procedimiento se repitió en la campana de flujo laminar para evitar contaminación, hasta completar las botellas de cada sustrato
6. Las botellas se llevaron a una cámara bioclimática donde se colocaron a una temperatura de $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa de 60 a 70 %, por 7 días.
7. Durante el transcurso del crecimiento se observó cada una de las siembras del hongo. Para evaluar la producción del hongo en el trigo, se procedió a tomar una muestra de cada una de las botellas inoculadas. Se pesó 1 gramo por botella posteriormente se determinaron el número y la viabilidad de conidias contenidas en ese gramo de medio y la viabilidad de conidias contenidas en ese gramo de medio.

Condiciones de los Bioensayos realizados con *H. citrifomis*.

Para cada tratamiento los adultos de *D. citri* se separaron en 8 grupos con 15 adultos cada uno, 4 de ellos fueron infectados con *H. citrifomis* y los otros 4 fueron los controles. Para los bioensayos se utilizaron recipientes de plástico transparente con tapa y con una capacidad de 500 ml el cual fue acondicionado con una esponja humedecida con agua purificada que cubría la base del mismo recipiente y colocando en la superficie hojas de limón (*Citrus limon*) enteras y en buen estado fisiológico utilizadas como alimento para las *D. citri* durante los bioensayo.

Los recipientes (tratamientos y testigos) se mantuvieron a una temperatura de 23 - 28 °C, una humedad relativa y 12 horas luz.

Los bioensayos realizados se pueden observar en la tabla 4.

Tabla 3. Bioensayos evaluados en laboratorio de *H. citrifomis* en *D. citri*.

Tratamiento	Forma de Aplicación del Hongo	Estado biológico de <i>D. citri</i>
T1	Exposición a Insecto micosado.	Adulto
Testigo	Sin exposición	Adulto
T2	Suspensión de conidias en agua.	Ninfas de diferentes estadios.
Testigo	Agua	Ninfas de diferentes estadios.
T3	Exposición a Sinemas *	Adulto
Testigo.	Sin exposición a sinemas	Adultos
T4	Esporas secas directamente de PDA	Adultos
Testigo	Exposición a PDA	Adultos

*Son fructificaciones del hongo *H citrifomis*.

Infección de *D. citri*: exposición a insectos micosados con *H. citrifomis* (Insecto a Insecto).

La metodología evaluada consistió en inactivar por unos minutos a las *D. citri* con Bióxido de carbono; ya inmobilizadas fueron tomadas con un pincel y colocadas por 3 minutos dentro de un vaso de plástico de 5 ml de capacidad junto a adultos de *D. citri* micosados con *H. citrifomis*.

El testigo no se expuso a *H. citrifomis* solo se mantuvo en igualdad de condiciones que el tratamiento.

Las condiciones en las cuales se llevaron y se mantuvieron a cabo los bioensayos se describieron en el apartado anterior.

Infección de *D. citri* (Suspensión de *H. citrifomis* en agua).

Se preparó una concentración de 3.7×10^7 esporas contando éstas con la cámara Neubauer. La metodología consistió sumergir las ninfas por 5 segundos en la suspensión de esporas. Para el testigo sólo se le aplicó agua con los mismos procedimientos.

Las condiciones en las cuales se llevaron y se mantuvieron los bioensayos se describieron en el apartado anterior titulado condiciones del bioensayo.

Infección de *D. citri* expuestas a sinemas de *H. citrifomis*.

La forma de infección consistió en inactivar adultos de *D. citri* con bióxido de carbono para facilitar el manejo de estas mismas. A continuación se tomaron con un pincel las *D. citri* y se colocaron por 3 minutos dentro de un frasco con capacidad de 15 ml donde previamente se había colocado los sinemas en seco de *H. citrifomis*. El número de conidias fue de 3.8×10^7 conidias en 5 gramos de sustrato.

Infección de *D. citri* expuestas a esporas en seco; exposición de *H. citrifomis* directamente de medio PDA.

El método evaluado consistió en tomar adultos de *D. citri* con la ayuda de un pincel y colocarlos dentro del área de 150 x 15 mm, de la caja petri donde se encontraba el hongo *H. citrifomis* creciendo en PDA. Se mantuvieron dentro de la caja petri por 5 minutos.

Para contabilizar el número de esporas que pudieron haber tomado los insectos se tomaron 5 cuadros de 1 cm aproximadamente de PDA con el hongo y se contabilizo con la cámara de Neubauer obteniéndose un promedio de 7.3×10^9 esporas en 10 ml.

El testigo se colocó en cajas petri con PDA sin el hongo por el mismo tiempo en que fueron expuestos las *D. citri* tratados con el hongo.

Posteriormente se siguió con los pasos descritos en apartados anteriores.

RESULTADOS

Observaciones de *Z. longipes*.

Fluctuación de la población de adultos y ninfas a diferentes horas. Se observó (Fig.16) una población de 1677 individuos de *Z. longipes* (687 adultos y 990 ninfas) de diferentes edades, estados biológicos y de distinto sexo. . Una media general de la población de 20.9 *Z. longipes*/día durante todo el periodo de las observaciones, un promedio de 17.1 de adultos, y un promedio de 24.7 en ninfas de diferentes instares.

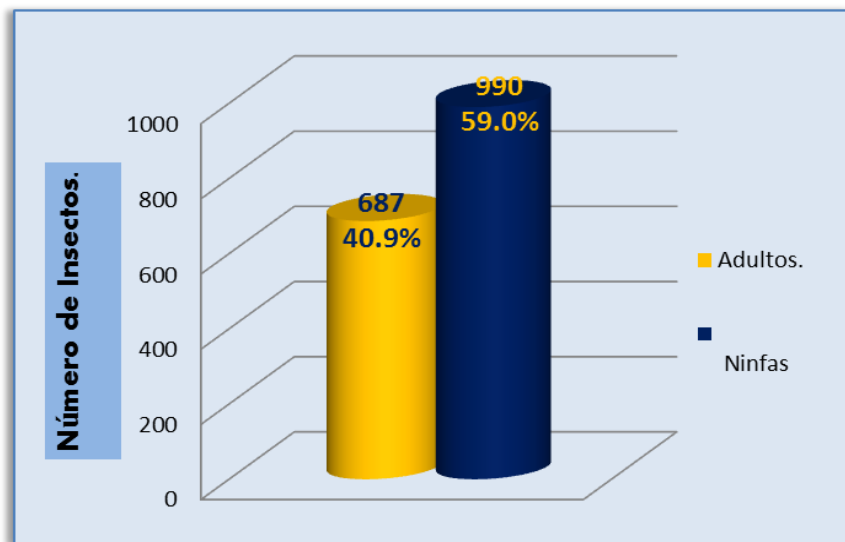


Figura 16. Número de *Z. longipes* y porcentajes de adultos y ninfas.

Se observaron 40.9 % adultos y un 59.03 % en estado de ninfa. En la Fig. 17 se observa que en los primeros 31 días existió una mayor población de adultos con respecto a las ninfas.

Desde el día 32 al 40 se mostró un aumento repentino de ninfas sobre los adultos, de un 40 % a un 85.4% y se redujo el porcentaje de adultos de un 46% a 23 %, (un 50 % del total de la población de adultos).

Estos cambios se debieron posiblemente a factores abióticos como son la precipitación siendo una precipitación total media para el mes de febrero 52.8 mm, marzo 60.7 mm, y abril, 72.4mm. La lluvia posiblemente causa que los adultos vuelen abandonando las plantas.

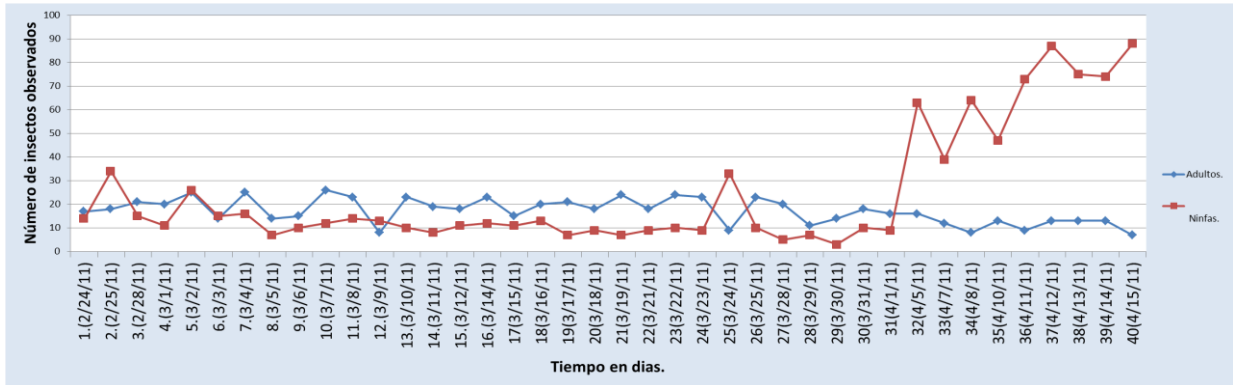


Figura. 17. Fluctuación de la población de adultos y ninfas de *Z. longipes* observada durante los meses de Febrero 24 –Abril 14

Respecto a los cambios aparentemente de número de adultos y ninfas a lo largo del día la mayor población estos reducidos se observó durante las horas de la mañana. En relación a la hora en que se realizaron las observaciones por la mañana (8-9 hrs) se observaron 650 individuos (38.9 %) a medio día (11-12 hrs) 486 (29.1 %); finalmente en la tarde (16-17 hrs) 532 insectos (31.8 %) (Fig.18).

En cuanto a la hora del día en la que se llevaron a cabo las observaciones diarias se obtuvieron los siguientes datos (Fig.19); de 8-9 am se observaron 37.0% adultos y 62.9 % ninfas a las 11-12 am los resultados fueron un 54.3% en ninfas y un 45.6% adultos, y a las 16-17 horas resulto con un 39.4% en adultos y un 60.5% en ninfas, resaltando que eran adultos y ninfas de edades diferentes.

Los mayores números fueron observados en la mañana y tarde para el caso de las ninfas, y en adultos fueron al medio día y tarde posiblemente esta variación se debió al aumento de la temperatura que ocasiona diferentes patrones de actividad sobre ninfas y adultos.

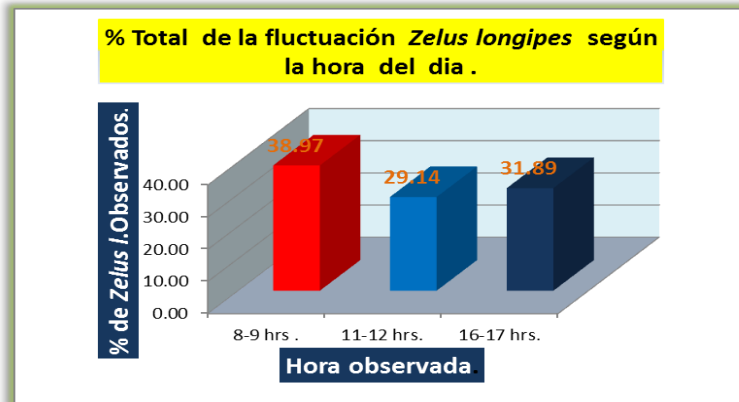


Figura 18. Porcentaje en relación a la población total de *Z. longipes* observada en diferentes horas del día.

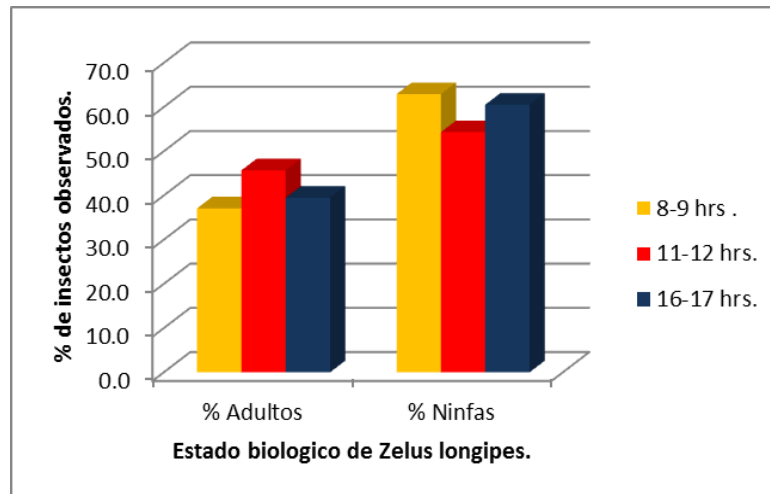


Figura 19. Se observa el porcentaje de *Z. longipes* en relación al estado biológico de *Z. longipes* en la hora del día en la que se realizó la observación.

Depredación de ninfas de *Z. longipes* sobre adultos *D. citri*.

La depredación que causaron las ninfas de *Z. longipes* sobre adultos de *D. citri* se muestra a continuación en la Figura 20. Se observó una depredación mínima de 6% de los 1200 insectos ofrecidos como presa al segundo día y una máxima de 8% el día cinco con referencia al testigo que fue de 0.3%. También se observa una continuidad en la depredación durante los ocho días observados, del 6 al 8%. Podríamos considerar un aumento por arriba del 1% al 2% por arriba de su mínima de depredación, sin sobrepasar del 8%. Podríamos considerar que un *Z. longipes* de primer estadio consume un máximo de 4 *D. citri* adultos por día.

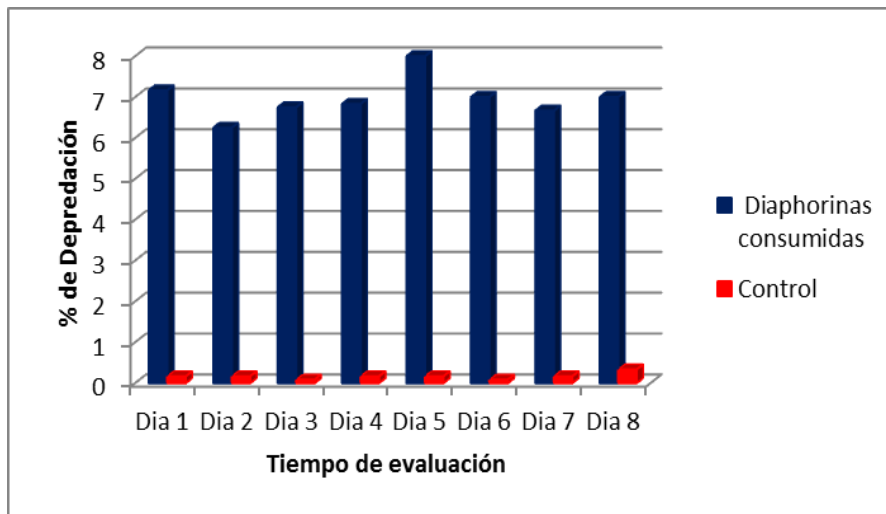


Figura 20. Tratamiento 1. Porcentaje de depredación de ninfas de *Z. longipes* sobre adultos de *D. citri*.

Depredación de ninfas de *Z. longipes* sobre ninfas de *D. citri*.

La Fig. 21 muestra los resultados obtenidos de la depredación de *Z. longipes* sobre ninfas de diferentes instares de *D. citri*. Se observa una depredación mínima de 1% (17 ninfas de *D. citri*) desde el día uno hasta el día tres, aumentando un 2% el día cuatro y permaneciendo así hasta el día cinco, y llegando a 3% el día seis. Expresando una depredación máxima el día ocho con un 6%.

Se notó que la mortalidad del control fue aumentando conforme fue pasando el tiempo hasta alcanzar el día siete y ocho un 2 % de mortalidad. Se considerará que un *Z. longipes* de primer estadio consume de 1-2 ninfas por día. En los bioensayos realizados se observó que los *Z. longipes* en este instar, se alimentan de las excretas de las ninfas conocidas comúnmente como salerillo o mielecilla, posiblemente reduciendo así su alimentación de ninfas.

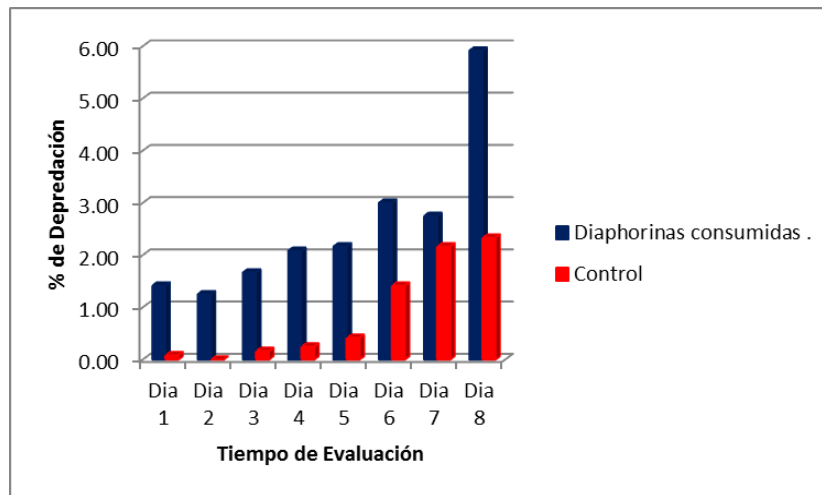


Figura 21. Tratamiento 2. Porcentaje de depredación de ninfas de *Z. longipes* sobre ninfas de *D. citri*.

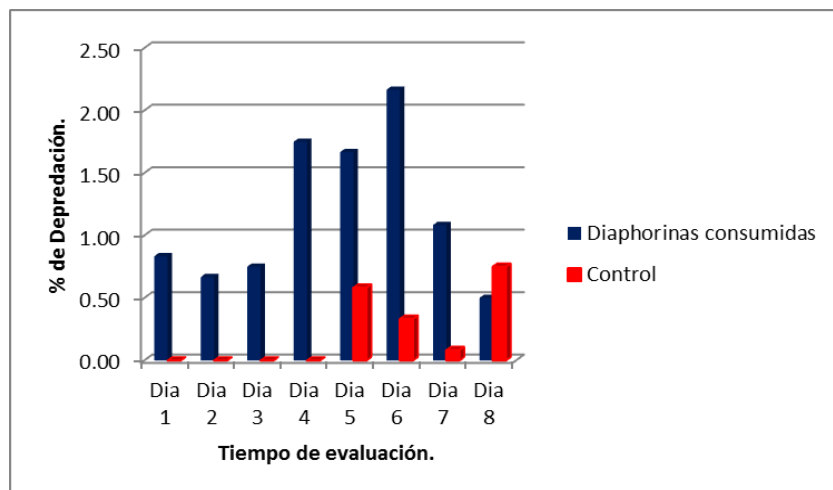


Figura 22. Tratamiento 3. Porcentaje de depredación de ninfas 1 *Z. longipes* sobre huevos de *D. citri*.

Depredación de ninfas de *Z. longipes* sobre huevos de *D. citri*.

Se obtuvieron porcentajes de depredación por debajo del 1 % (8 huevos de *D. citri*), los tres primeros días de la evaluación, aumentando el cuarto día con un 1.5% a 2 % el día seis (siendo este su máximo consumo), volviéndose a reducir a 1 % el día siete y finalmente reduciendo a un más su consumo el día ocho a 0.5%. Se observó mayor mortalidad del control con un 0.8% (Fig. 22). Estas evaluaciones, muestran que las ninfas *Z. longipes* tienden a consumir adultos de *D. citri* en mayor medida comparado con el consumo de ninfas y huevos de *D. citri*. El reducido consumo de huevos como de ninfas podría deberse a que estos Reduviidae optan por depredar insectos en movimiento o con mayor tamaño.

Depredación de adultos de *Z. longipes* sobre adultos de *D. citri*.

A diferencia de los *Z. longipes* en estado de ninfa 1 los resultados contrastan con este tratamiento donde se evaluó adultos de *Z. longipes*, mostrándose resultados en la Fig. 23. *Z. longipes* inició con una tendencia de depredación inicial de 27% disminuyendo el día dos en un 13% (170 insectos) y aumentando nuevamente en el día tres a 33 %, siendo este el porcentaje más alto de consumo. A partir de esta depredación los porcentajes de consumo fueron disminuyendo de un 3 a 4 %. Con respecto al control los valores de mortalidad fueron muy bajos considerándolo en un 1%. Podemos expresar que la depredación de un *Z. longipes* adulto puede depredar de 13 a 14 adultos de *D. citri* diariamente. Comparando estos resultados con los obtenidos en el tratamiento anterior *Zelus* ninfa 1 sobre adultos de *D. citri*, notamos que *Z. longipes* adulto consume 3 veces más adulto que en estado de ninfa 1.

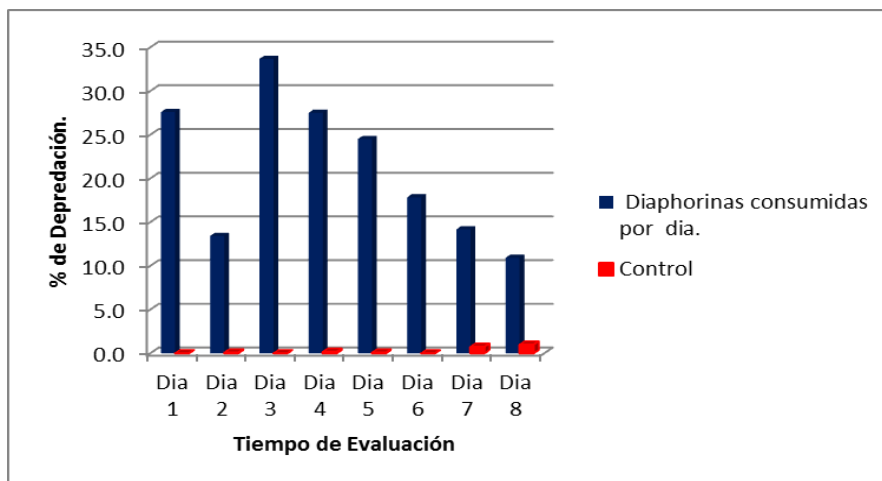


Figura 23. Tratamiento 4. Porcentaje de depredación de *Z. longipes* adultos sobre adultos de *D. citri*.

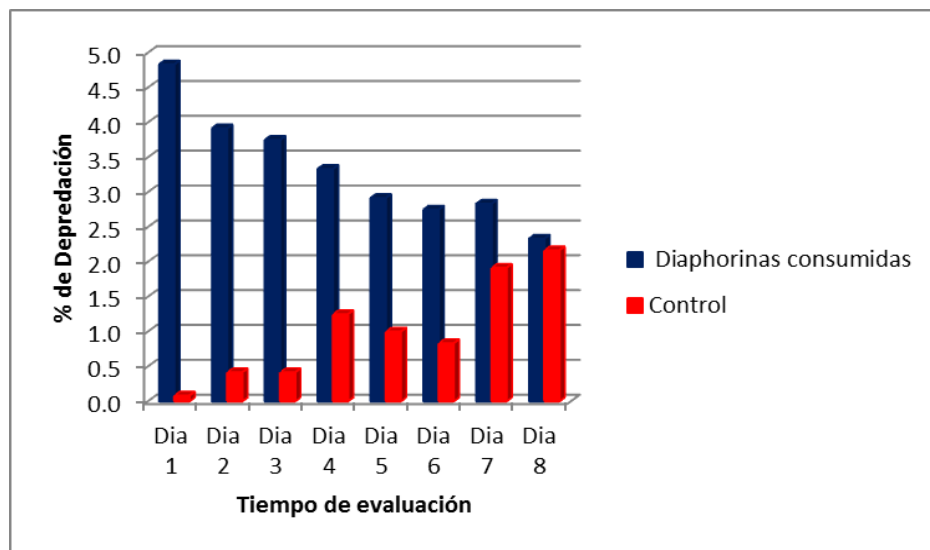


Figura 24. Tratamiento 5. Porcentaje de Adultos de *Z. longipes* depredando ninfas de *D. citri*

Depredación de adultos de *Z. longipes* sobre ninfas de *D. citri*.

Un adulto de *Z. longipes* consumió un máximo de 4.8% en el día uno, esto disminuyó posteriormente hasta que el día ocho el control tomó valores de mortalidad similar al tratamiento de 2.3 % a 2.2% respectivamente. (Figura 24). Podemos comparar estos resultados con los obtenidos del tratamiento de *Z. longipes* ninfa 1. Aparentemente son totalmente opuestos, ya que mientras la ninfa de *Z. longipes* aumenta su consumo hasta el día ocho, *Z. longipes* adultos inician consumiendo un porcentaje alto el cual disminuye conforme pasa el tiempo. (Obsérvese figura 20 y figura 24). Se considera que *Z. longipes* no prefiere consumir ninfas.

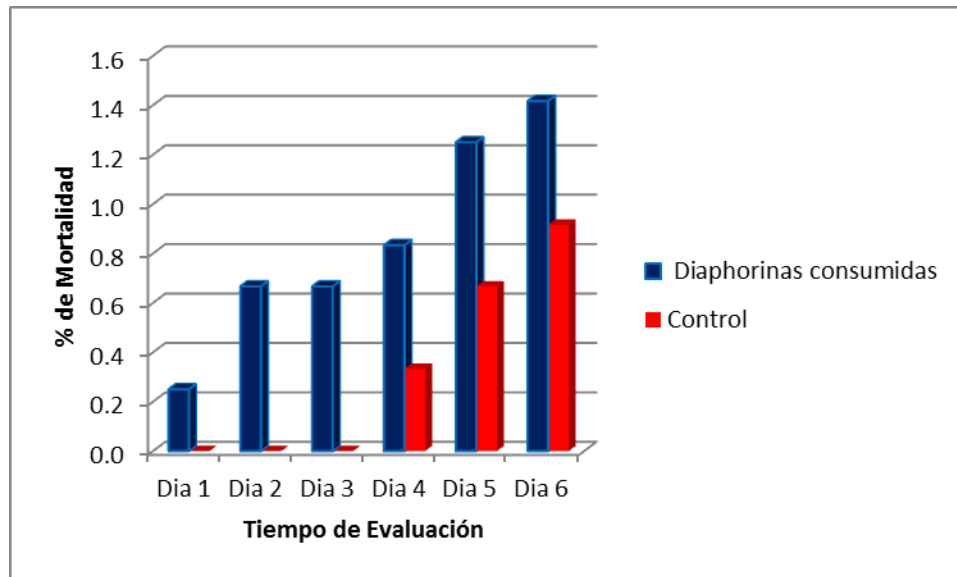


Figura 25. Tratamiento 6. Porcentaje de depredación de *Z. longipes* sobre huevos de *Diaphorina citri*.

Depredación de adultos de *Z. longipes* sobre huevos de *D. citri*.

Nótese en la figura 25, que los adultos *Z. longipes* consumen un porcentaje de 0.2% de los insectos ofrecidos (3 ninfas de *D. citri*) y este aumenta conforme el tiempo pasa hasta llegar a un 1.4 %, así también la mortalidad de los huevos de *D. citri* va aumentando conforme pasa el tiempo en el día cuatro. Los datos indican que un adulto consume menos huevos que una ninfa de *Z. longipes* siendo este de 1.4 % de y 2.1 % de 1200 huevos expuestos respectivamente (Obsérvese figura 25 y figura 22). En adultos *Z. longipes* tendió a fluctuar el porcentaje de consumo, depredando un porcentaje menor que el de ninfas 1 de *Z. longipes*, mientras que este último el consumo fue similar durante todos los días evaluados. Considerando nuestros resultados obtenidos, el mayor consumo entre los tratamientos fue el número 4: consumo en adultos de *D. citri* por adultos de *Z. longipes* (fig.23), y el tratamiento 1 (fig. 20) referente a *D. citri* adultos consumidas por *Z. longipes* ninfa 1. Los menores consumos se presentaron en tratamientos 3 y 6: consumo de *D. citri* huevos por ninfa 1 y adultos de *Z. longipes*. El bajo consumo de huevos como de ninfas comparadas con el consumo de adultos, se debe posiblemente a que estos Reduviidae consumen adultos prefiriéndolos por encima de ninfas y huevos, debido a que estos prefieren insectos de hasta tres veces su tamaño y que estos presenten mayor movimiento tales como larvas de lepidóptero o moscas y mosquitos entre otros. El bajo consumo presentado por ninfas de *Z. longipes* aumenta conforme incrementa su edad (Streams, 1994)

II. Observaciones con *Hirsutella citriformis*.

Producción en bolsas de plástico del hongo *H. citriformis* en granos de trigo como sustrato.

La producción obtenida en este sustrato en bolsas de plástico fue de 7.6×10^6 conidias en 1 gramo de sustrato. *H. citriformis* desarrolló sinemas muy largos, escaso micelio, coloración café claro. Como se observa en la fig. 26.



Figura 26. Sinemas observados de la cepa CH8D13 del hongo *H. citriformis* en granos de trigo integral como medio de cultivo. Abundante producción de fructificaciones del hongo (sinemas).

Producción en botellas del hongo *H. citriformis* en granos de trigo, arroz y hojuelas de avena.

Al sembrar la cepa CH8D13 de *H. citriformis* en los tres diferentes granos, se obtuvo una producción de 3.2×10^7 conidias por gramo de sustrato en el arroz integral; en trigo hubo una producción de 4.9×10^7 por gramo y finalmente el de mayor producción fueron las hojuelas de avena con una producción de 5.9×10^7 en las mismas unidades. Además de que la producción de conidias fue distinta en los diferentes granos también se observaron coloraciones diferentes en los sustratos con crecimientos de micelio y sinemas.

Para el caso del sustrato en granos de arroz integral, el crecimiento de *H. citriformis* fue en pequeñas áreas, y con producción de sinemas erectos y con coloración de café oscuro. Tal y como se observa en la Fig.27.



Figura 27. Crecimiento de *H. citriformis* en granos de arroz.

En el crecimiento de trigo integral se observó sinemas más pequeños y pegados al sustrato con mayor micelio algodónoso y crecimiento uniforme en todos los granos de trigo, la coloración presentada fue de un color café claro a rosáceo. Como se puede apreciar en la Fig.28.



Figura 28. *H. citriformis* creciendo en granos de trigo y Sinemas envolviendo un grano de trigo.



Figura 29. *H. citrifomis* en hojuelas de avena.

El resultado en hojuelas de avena presento un crecimiento de sinemas uniforme presentándose una coloración similar a la producida en granos de trigo, considerando la diferencia solo en mayor producción de sinemas aún más cortos y gruesos pegados al sustrato (Fig. 29)

De los tres granos utilizados la literatura reporta que la avena contiene mayor cantidad de proteínas, vitaminas y minerales, le sigue el trigo y posteriormente el arroz posiblemente a ello se le puede atribuir la favorable producción del hongo en las hojuelas de este grano.

Resultados de la Infección de *D. citri*: exposición de adultos a insectos micosados con *H. citrifomis* (Infección de Insecto a Insecto).

En la fig. 30 Se observa un porcentaje del 60 % de mortalidad de *D. citri* a los 14 días de haber sido infectadas por el hongo *H. citrifomis*, siendo esta la máxima mortalidad alcanzada.

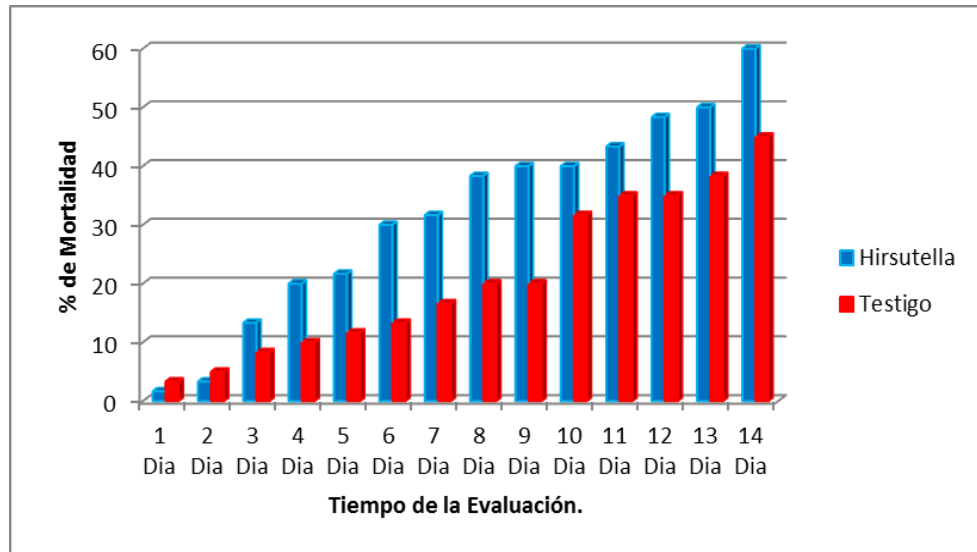


Figura 30. Tratamiento 1. Mortalidad de *D. citri* causado por Insectos micosados.

Así también se observó que hasta el día 13 se alcanzó un 50 % de mortalidad en comparación con el testigo que en este se observó un 38 % de mortalidad en los mismos días. Cabe mencionar que en los insectos expuestos al insecto infectado se observó el desarrollo del hongo *Hirsutella*. En los testigos no se observó el crecimiento de este hongo.

Se considera la mortalidad más baja de *D. citri* por este método de aplicación en comparación con los demás tratamiento realizados.

Este porcentaje de mortalidad alcanzada podría compararse con la forma de infección que se puede dar en la naturaleza. Sin embargo debe considerarse que solo se expuso un insecto micosado en contacto con 60 sanos, por lo que la cantidad de conidias en contacto con los insectos sanos posiblemente fue muy baja.

Resultados de la Infección de ninfas *D. citri* por exposición a una suspensión de conidias de *H. citriformis* en agua.

La máxima mortalidad expresada en ninfas de diferentes estadios se observó hasta el día 8 con un 95 % de mortalidad, en relación al testigo que fue de 52 % en los mismos días. La mitad de la población expuesta al hongo murió en el sexto día, mientras que el porcentaje de mortalidad en el testigo fue de un 27 %. (Figura 31).

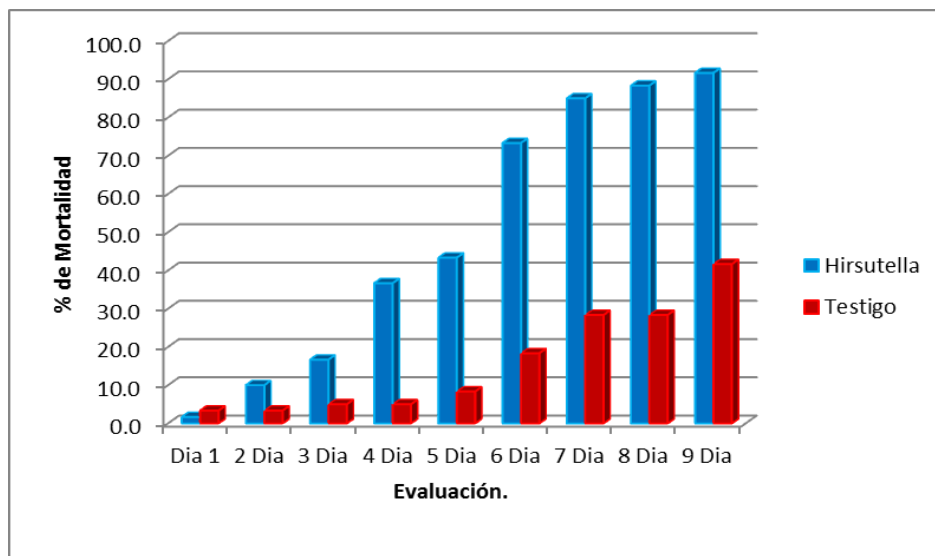


Figura 31. Tratamiento 2 Mortalidad de ninfas de *D. citri* de diferentes instares causada por *H. citriformis* dilución en agua.

De todos los tratamiento éste fue el tratamiento con el mayor porcentaje de mortalidad, considerando que este bioensayo se realizó en ninfas de diferentes instares, esto puede significar, que las ninfas son más susceptibles a los adultos en cuanto al hongo *H. citriformis* con este método de aplicación. Sin embargo no se observó desarrollo del hongo en los insectos expuestos.

Resultados de la Infección de adultos de *D. citri* expuestas a sinemas de *H. citrifomis* producidos en cultivo en laboratorio.

En la Fig. 32 se aprecia la mortalidad del 73 % a partir del día sexto y una máxima de 91 % para el día 9, en comparación con el testigo que alcanzo una mortalidad máximo de 41%.

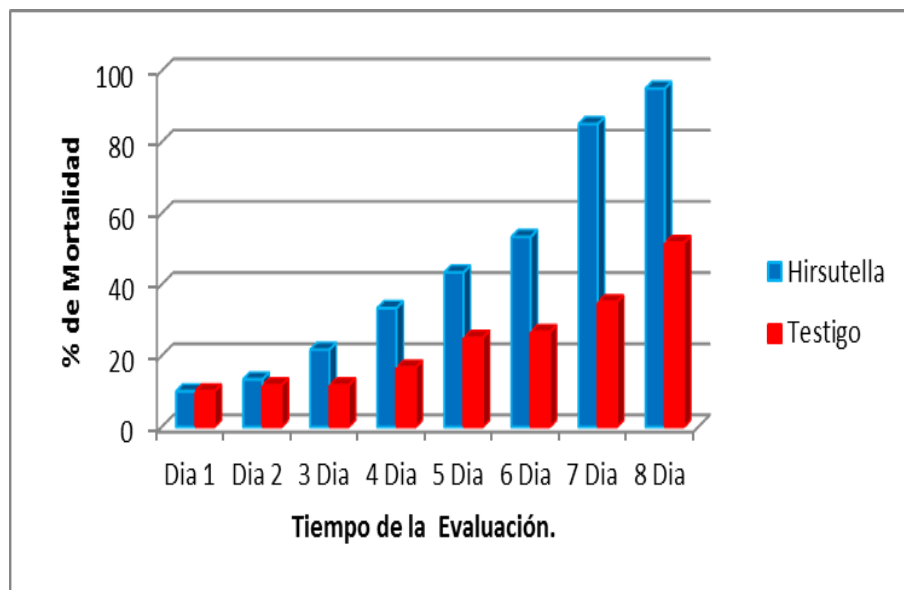


Figura 32. Tratamiento 3. Mortalidad de *Diaphorina citri* infectado con sinemas.

Comparando los tratamientos realizados este se considera el segundo tratamiento, en presentar una mortalidad de 70 % en menos tiempo y el mejor tratamiento de los bioensayos realizado en adultos de *D. citri*. En la fig. 33 se observa un adulto de *D. citri* con sinemas del *H. citrifomis*, creciendo como resultado de la exposición al hongo.

Según la metodología de infección utilizada y los resultados de mortalidad obtenidos pudieran significar que esta sería una buena opción de aplicación de aplicación.



Figura 33. Crecimiento de adultos *H. citriformis* en adulto de *D. citri* inoculado por contacto con sinemas producidos en laboratorio.

Resultados de la Infección de *D. citri* expuestas a esporas en seco; de *H. citriformis* directamente de medio PDA.

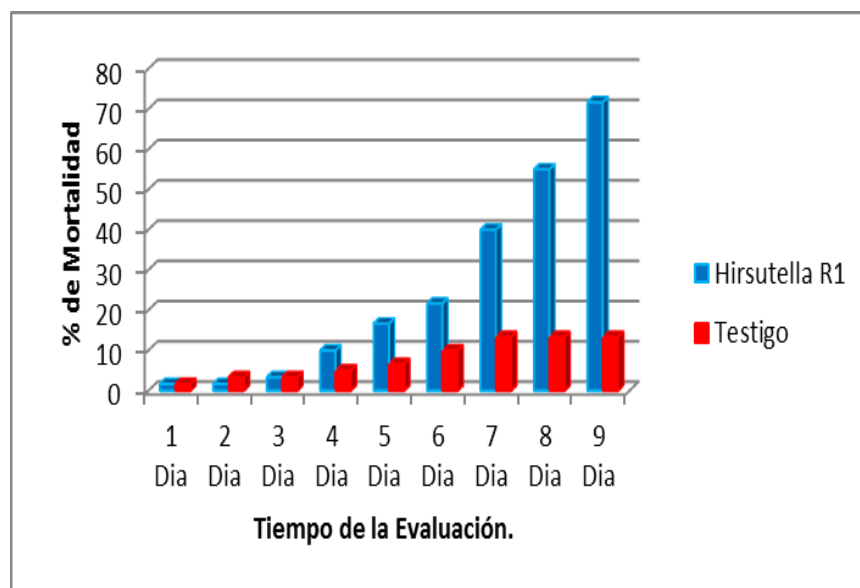


Figura 34. Tratamiento 4. Mortalidad expresada en *D. citri* infección por exposición de *H. citriformis* directamente de medio PDA.



Figura 35. Adulto de *D. citri* inoculado con *H. citrifomis* mostrando sinemas (crecimiento del hongo). Resultados obtenidos de los bioensayos exposición directa de medio de cultivo.

Esta aplicación fue más efectiva comparada con la aplicación de insecto a insecto, la cual expresó en el día nueve un 40 % con un 72%.Fig. 34.

En la figura 35 se observa la invasión del hongo en adultos de *D. citri* se muestran sinemas de coloración café, resultados de este tratamiento

DISCUSION.

Respecto a *Z. longipes* en las observaciones realizadas en campo concluimos que en la población de *Z. longipes* estudiada se detecta una proporción mayor en ninfas que de adultos, presentándose un 59% sobre 40 % respectivamente. La población de ninfas de *Z. longipes* aumentó significativamente en el mes de marzo excediendo así a la población de adultos.

En referencia a la población en general se observaron más *Z. longipes* en la mañana y tarde. Se observaron más adultos al medio día, mientras que en ninfas la mayor población se observó en la mañana. Las razones de estas diferencias (posiblemente aparentes) son desconocidas.

Respecto a la depredación observada por *Z. longipes* sobre *D. citri* en sus diferentes estados biológicos concluimos que *Z. longipes* adultos y ninfa 1 de *Z. longipes* prefieren alimentarse en mayor medida de adultos de *D. citri*. Estos datos son importantes debido a que nos dicen en que parte de la vida de *D. citri* son más vulnerables a depredadores como estos Reduviidae y así poder reducir su número.

Así también las ninfas 1 de *Z. longipes* se alimentan de un número menor de *D. citri* adulto y aumentan su consumo conforme llega a ser adulto. Nuestros resultados concuerdan con lo que menciona Bell (1990) debido a que las presas más grandes son más fáciles de ser observados por el depredador y aunque estos podrían ser más difíciles de dominar, para el caso preciso de nuestro trabajo el tamaño de una *D. citri* adulto no representa una dificultad para *Z. longipes*.

Una ninfa de 1 instar de *Z. longipes* se alimenta de 4 *D. citri* adulto, y un adulto *Z. longipes* se alimenta de 13 a 14 *D. citri* en estado adulto. Posiblemente *Z. longipes* no sobre pase este número determinado de *D. citri* posiblemente se deba a que según Cohen (1993, 1995) algunos Heteroptera toman por lo menos un día para poder recuperar sus enzimas digestivas.

Posiblemente esto signifique que cuando la población de *D. citri* aumente la capacidad de depredación será estacionaria por parte de *Zelus*. Contrariamente en ninfas de *Z. longipes* se observó que conforme este pasa de un estado ninfa I al siguiente aumenta el número de *D. citri* depredadas.

Autores como Sahayaraj y Asha (2010) obtuvieron porcentajes de depredación diferentes a los obtenidos en nuestro trabajo, quizá debido a la diferencia del depredador que aunque permanezcan a la misma familia poseen cualidades depredadoras totalmente distinta asumiendo también que la presa ofrecida fueron pulgones.

Así también tanto en laboratorio como en campo los *Zelus* mostraron preferencias por *Diaphorinas* interpretándose como insecto bien aceptado por su reducido tiempo de captura, alimentarse de estas y en reducir el tiempo de exposición como presa de otros posibles depredadores.

Actualmente existen muchos trabajos sobre depredación potencial de diferentes Reduviidae sin embargo hasta ahora no se ha reportado trabajos sobre la capacidad de depredación de *Z. longipes* en *D. citri*.

Referente a *H. citriformis* en la producción de conidias en sustratos, arroz, trigo y avena, resulto ser mejor las hojuelas de avena, le continuó el trigo y posteriormente el arroz. Una buena opción fue la siembra en botellas de cristal contrario a las siembras en bolsas de plástico que aunque mostró mejor desarrollo y abundancia en sinemas, en la producción de conidias resultó ser más bajo que el mismo trigo sembrado en botellas. Esta diferencia aparente en producción podría deberse a que las conidias producidas en bolsas se adhieren fuertemente a las paredes, evitando su completa recuperación. En el medio donde se manifestó mayor crecimiento de sinemas fue en el sustrato hojuelas de avena, así también manifestó un crecimiento uniforme del hongo, además de haber resultado un buen sustrato parece ser la opción más económica en comparación con los dos granos comparados

De los tratamientos comparados en la inoculación del hongo *H. citriformis* en *D. citri*, hubo mayor mortalidad en la aplicación a ninfas de esporas suspendidas en agua obteniéndose una mortalidad a los ocho días. En la aplicación en adultos la mayor mortalidad fue con esporas en seco directamente de sinemas, continuó la inoculación por contacto de crecimiento del hongo en y finalmente la infección de insecto a insecto aunque la mortalidad causada en este último tratamiento haya sido hasta los catorce días expresando una mortalidad considerable de un 60 %.

Resultados similares a los nuestros fueron obtenidos por autores como Meyer *et al.* (2007) ellos reportaron una mortalidad en adultos de *D. citri* del 100% de 9 a 10 días infectados con sinemas de *H. citriformis*. Sin embargo los resultados obtenidos por infección de insectos micosados fueron distintos a los nuestros obteniendo una mortalidad de 83% en el sexto día y un 100% en el noveno día. Así también Dwiastuti y Kurniawati (2007), observaron una mayor mortandad con un promedio de 11.7 días en adultos de *D. citri* con relación a las ninfas utilizando una suspensión líquida de *Hirsutella*.

Casique *et al.* (2011) reporta resultados análogos obteniendo una mortalidad en adultos de *D. citri* y de *B. cockerelli* a los 6 días posteriores a la aplicación de este mismo hongo.

Es necesario hacer bioensayos donde se cuantifique y se uniformice el número de conidias del hongo aplicadas para evitar variabilidad en la mortalidad debido a este factor.

LITERATURA CITADA.

- Al-Ghamdi, K. M. S. 2000. A field study on synchrony between the populations of citrus Psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) and its natural enemies in western Saudi Arabia. Bull. Fac. Agric. Cairo University 51: 227-238.
- Anderson, J. Rayner A y Walton.D.1984. Invertebrate microbial interactions. Cambridge. University Press. Cambridge. Pg 229-270.
- Atwal, A. S., Chaudhary J. P. Y Ramzan, M. 1968. Studies on the development and field population of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Psyllidae: Homoptera). J. Res. Punjab Agric. Univ. 7: 333-338.
- Aubert, B. 1987. *Trioza erythrae* 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.
- Bell, W. J., 1990: Searching Behaviour: the Behavioural Ecology of Finding Resources. London: Chapman & Hall.
- Bellotti, A. 2002. Arthropod Pests. In: Cassava Biology, production and utilization. Hillocks, R.; Thresh, J.; Bellotti, A. CABI Publishing. London. United Kingdom. 209-235.
- Bueno, V. H. P. y Berti Filho, E. (1991), Controle biológico de insetos com predadores. Inf Agropec, 15, 41-52

- Cabrera, R. I., C. González, D. Hernández, y J. R. Tapia. 2001. Presencia del hongo *Hirsutella citriformis* Speare sobre *Diaphorina citri* Kuw. (Homoptera, Psyllidae) en cítricos de Cuba. IV Seminario Cientif. Internac. de Sanidad Vegetal. Varadero. Pág. 273.
- Casique-Valdez, R, Reyes-Martinez, A. Y, Sánchez-Peña, S. ,R, Bidochka. M. J y Lopez-Arroyo, J. I. 2011. Pathogenicity of *Hirsutella citriformis* (Ascomycota:Cordycipitaceae) to *Diaphorina Citri* (Hemiptera: Psyllidae) and *Bactericera Cockerelli* (Hemiptera: Triozidae). Florida Entomologist 94;76-78.
- Cermeli, M., P Morales, y F .Godoy .2000.Presencia del psílido asiático de los citricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Venezuela. Boletin de Entomología Venezolana 15: 235-243.
- Chavan, V. M., y A. S. Summanwar. 1993. Population dynamics and aspects of the biology of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw., in Maharashtra, pp. 286-290 .
- Cogni R., Freitas A. V. L., Filho F. A. 2000. Influence of prey size on predation success by *Zelus longipes* L. (Het., Reduviidae). Journal of Applied Entomology 126: 74-78.
- Cohen, A. C., 1993: Organization of digestion and preliminary characterization of salivary trypsin-like enzymes in a predaceous heteropteran. J. Insect Physio. 39, 823–829.
- Cohen, A. C., 1995: Extra-oral digestion in predaceous terrestrial arthropoda. Ann. Rev. Entomol. 40, 85–103.

- Chandral S., R. L. Sinazer y S. P. Kumar (2005). Influence of prey on the development, reproduction and size of the assassin bug, *Sphedanolestes minusculus* Bergroth (Heteroptera: Reduviidae), a potential biological control agent. — Journal of Entomological Research, 29(2): 93–98.
- Chiou-Nan Chen. 1998. Ecology of the Insect Vectors of Citrus Systemic Diseases and Their Control in Taiwan. FFTC Publication Database.
- Diznarda Salcedo E. Evaluación del Impacto económico de Huanglongbing (HLB) en la cadena Citrícola Mexicana. México: IICA, 2010.
- Dwiastuti, M.E. y M. Y. Kurniawati. 2007. The efectivity of entomopathogen of *Hirsutella citriformis* (Deuteromycetes: Moniliales) on Psyllid *Diaphorina citri* Kuw. Indonesian Centerfor Horticulture Research and Development. Indonesia. 1 p
- EPPO. Database on Quarantine pest. *Diphorina citri*. (En línea). Disponible en <http://www.eppo.org/>
- Etienne, J; S. Quilici; D. Marival y A. Franck. 2000. Controle biologique de *Diaphorina citri* (Hem., Psyllidae) a la Reunion et en Guadeloupe au moyen de *Tamarixia radiata* (Hym., Eulophidae) Atelier regional d'information sur la situation phytosanitaire desagrumes dans la Caraibe. Guadeloupe. 1-8 p.
- 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.

- Félix, J.A., Naranjo M de O Fernando y Grillo R. H. 2003. Hongos entomopatógenos de *Diaphorina citri* Kirk.(Homoptera;Psyllidae) en Jovellanos, Matanzas. Centro de Investigaciones Agropecuarias, Universidad Central de Las Villas .Centro Agrícola, año 30, no.2, abril-junio.
- Fernández, M y Miranda, I. 2005: Comportamiento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Parte I: Características morfológicas, incidencia y enemigos naturales asociados. Rev. Protección Veg. 20(1): 27-31.
- Goettel M. S. y Inglis, G. D. 1997. Fungi; Hyphomycetes. In: Lacey, L.A.(Ed) .Manual of Techniques in insect Pathology. Academic Press, New York.
- González, C., Borges, M., Gómez, M., Fernández, M., Hernández, D., Tapia, R. J., Cabrera, I.R., Beltrán, A. 2003. Manejo de *Diaphorina citri* Kuw. (Hemiptera: Psyllidae) en agroecosistemas cítricos de Cuba. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical. La Habana, Cuba. p 14.
- González,C.,M. Borges, D. Hernández, Jorge R. Tapia, y A. Beltrán. 2000 a. Inventario de enemigos naturales de *Diaphorina citri* Kuw.(Homoptera: Psyllidae) en Cuba. Proceedings of the International Society of Citriculture, IX Congr. 859
- González, C. J. C., Castellanos, S. I. E., Fucikovsky, Z. J., López, H. M., Sánchez, R. G y Elorza, M. P. 2008. Dinámica de población y tasa de infección de *Diaphorina citri* al hongo *Hirsutella citriformis* en *Citrus sinensis* en Tuxpan,Veracruz, México. 1p.
- González, C.; Hernández, Rodríguez, J. 2001. Influencia de los enemigos naturales en el comportamiento de *Diaphorina citri* (Kuw) (Homoptera, Psyllidae) en los cítricos de Cuba. En: Rev. Protección Veg. Vol. 17 No. 3, página 200.

- Grafton-Cardwell, Elizabeth E.; Godfrey, Kris E.; Rogers, Michael E.; Childers, Carl C. And Stansly, Philip A. Asian citrus psyllid [online]. University of California, Division of Agricultural and Natural Resources. 2007, p. 1-9.
- Gravena S. 1983. Controle biológico cultural algodounera. Informe agropecuario, v.9, n.104, p.3-15.
- Grundy P.R. 2007. Utilizing the assassin bug, *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae), as a biological control agent within an integrated pest management programme for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera : Noctuidae) and *Creontiades* spp. (Hemiptera : Miridae) in cotton. – Bulletin of Entomological Research, 97(3): 281-290.
- Grundy P y Maelzer D. 2000. Predation by the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker) (Hemiptera: Reduviidae) of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) and *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) in the laboratory. Australian Journal of Entomology 39, 280-282.
- Grundy P. R. y Maelzer D. A. 2003. Towards the on-farm conservation of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Walker) (Hemiptera: Reduviidae) during winter using crop plants as refuges. Australian Journal of Entomology 42, 153-158
- Hart, E. R. 1986. Genus *Zelus fabricius* in the United States, Canada and northern Mexico (Hemiptera: Reduviidae). Annals of the Entomological Society of America 79(3): 535-548.
- Hayek, A. y St. Leger R. 1994. Interactions between fungal pathogens and insect host. In: Annual Review of Entomology United States. (39): 293–322.

- Humber, R. A., 1997. Fungi: Identification. In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press Inc., San Diego, California, USA, pp. 153–185.
- Husain, M.A. y D. Nath. 1927. The citrus psylla (*Diaphorina citri*, Kuw.) [Psyllidae: Homoptera]. Memoirs of the Department of Agriculture in India., Entomological Series, 10 (2): 27 pp.
- INIFAP. 2010.. Publicación especial Núm. 5. México D.F.
- INISAV. 1999. La enfermedad del enverdecimiento de los cítricos y su vector (*Diaphorina citri* Kuwayama). Boletín Técnico (La Habana) 5 (1).
- Ishikawa T., Susila W. y Okajima S. 2007a: The thread-legged assassin bug genus *Calphurnioides* Distant (Heteroptera: Reduviidae) from eastern Java and Bali. Proceedings of the Entomological Society of Washington 109: 277-285.
- Jahnke S. M., L.R. Redaelli, L.M.G. Diefenbach y C. F. S. Efrom (2003). Distribuição espacial de posturas de *Cosmoclopius nigroannulatus* Stal (Hemiptera: Reduviidae) em *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae). – Neotropical Entomology, 32(1): 123-126.
- Liu, Y.H. y Tsai, H. 2000. Effect of the temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). Ann. Appl. Biol. 137: 201-216.
- Maldonado Capriles J. 1990. Systematic catalogue of the Reduviidae of the World. Caribbean Journal of Science, Special publication No. 1, University of Puerto Rico, Mayaguez, Puerto Rico: 1–694.

- Martínez Carrillo, J. L. y Cortez Mondaca A. 2008 El psilido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* amenaza la producción citricota de México. Memoria del XI Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas. UABC.
- Melo M., Coscaron M y Filho B. 2005. Immature stages of *Zelus longipes* (Heteroptera: Reduviidae, Harpactorinae). Transactions of the American Entomological Society 31: 101-110.
- Meyer, J. M. Hoy, M. A., y Boucias, D. G. 2007. Morphological and molecular characterization of a *Hirsutella* species infecting the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), in Florida. En: Journal of Invertebrate Pathology, 95: 101-109.
- Meyer, J. M.; Hoy, M. A., y Boucias, D. G. 2008. Isolation and characterization of an *Isaria fumosorosea* isolate infecting the Asian citrus psyllid in Florida. En: Journal of Invertebrate Pathology, 99: 96-102.
- Michaud, J. P. 2001. Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestations of Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. Florida Entomol. 84: 608-612.
- Michaud J. P. 2002. Biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Florida: a preliminary report. Entomol. News. 113 (3): 2169-223.
- Michaud, J. P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. Biological Control 29: 260-269.
- Moreno. P, J. V. da Graca, y L. W. Timmer. 1993. 12 th Conference of the International Organization of Citrus Virologists, University of California, Riverside.

- Miranda-Salcedo, M. A. y J. I. López-Arroyo. 2010. Manejo del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: psyllidae) en Michoacán. Entomología Mexicana.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. (63): 95-103.
- Nishi A., T. Imamura, A. Miyano-shita, S. Morimoto, K. Takahashi, P. Visarathanonth, R. Kengkanpanich, M.E.H. Shazali, y K. Sato (2004). Predatory abilities of *Amphibolus venator* (Klug) (Hemiptera: Reduviidae), a predator of stored-product insect pests. — Applied Entomology and Zoology, 39(2): 321–326.
- OEPP/EPPO (1990) . Specific quarantine requirements. EPPO Technical Documents No. 1008.
- Rivero-Aragon, A., y H. Grillo-Ravelo. 2000. Natural enemies of *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in the central region of Cuba. Centro-Agrícola 27(3):87-88.
- Sahayaraj K. y A. Asha. 2010. Biological control potential evaluation of *Rhynocoris kumarii* ambrose and livingstone (hemiptera : reduviidae) on *Aphis craccivora* (koch.) (hemiptera: aphididae). Indian J. Agric. Res., 44 (4): 281 -287
- Sansom, R. A., C. W. McCoy y K. L. O'Donnell. 1980. Taxonomy of the acarine parasite *Hirsutella thompsonii*. Mycologia 72: 359–377.
- Schuh R. T. & J. A. Slater .1996. True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera). Cornell University Press, New York, 157 pp.

- Subandiyah S. Nikoh N., Sato,H.,Wagiman, F.Tuyumu, S. y Fukatsu, T. 2000.Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking *Diaphorina citri* (Homoptera, Psylloidea) in Indonesia. *Mycoscience* 41: 509-513. pg. 509-513.
- Tripplehorn, C. A. y N. F. Johnson. 2005. Borror and DeLong's Introduction to the Study of Insects. Thomson Brooks/Cole, Belmont, California, USA.
- Tsai, J. H., J. J. Wang y Y. H. Liu. 2002. Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. *Florida Entomol.* 87: 446-451.
- Wolf KW, Reid W. 2000. The architecture of the anterior appendage in the egg of the assassin bug, *Zelus longipes* (Hemiptera: Reduviidae). *Arthropod Structure and Development* 29: 333-341