



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA
AGRÍCOLA



POSGRADO EN PROTECCIÓN VEGETAL

HONGOS ENTOMOPATÓGENOS EN EL CONTROL DE *Diaphorina citri* Kuwayama (HEMIPTERA: PSYLLIDAE), EN ACAPULCO DE JUÁREZ, GUERRERO

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA:

BRUNO LAUREANO AHUELICÁN



DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, JUNIO 2014

La presente tesis titulada “**Hongos entomopatógenos en el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), en Acapulco de Juárez, Guerrero**”, fue realizada por **Bruno Laureano Ahuelicán**, con la dirección y asesoría del consejo particular asignado y ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtener del grado de:

Maestro en Ciencias en Protección Vegetal

Consejo Particular

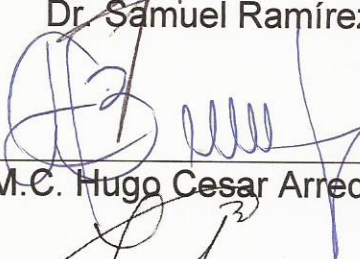
Director:


Dr. Juan Fernando Solis Aguilar

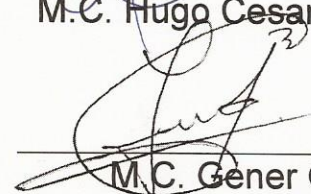
Asesor:


Dr. Samuel Ramírez Alarcón

Asesor:


M.C. Hugo Cesar Arredondo Bernal

Asesor:


M.C. Gener Catalán Batán

Chapingo, Texcoco, Estado de México, Junio 2014.

Dedicatoria

A Dios por brindarme una nueva oportunidad de vida.

A mis padres (Elena y Reyes†) y hermanos por siempre estar al tanto de mí en las buenas y en las malas.

Y en especial a la persona que Amo, que siempre ha estado a mi lado y ha visto el lado bueno de mi. Esther.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado durante mis estudios de Maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo, y en especial al Posgrado en Protección Vegetal, por brindarme la oportunidad de continuar con mi formación académica.

A los docentes del Programa de Posgrado en Protección Vegetal por compartir sus valiosos conocimientos y experiencia profesional en la formación de los Recursos Humanos que son lo más valioso de las instituciones y en la construcción de un México mejor.

Al distinguido consejo particular arriba mencionado, por la dirección de la presente investigación, por su confianza y por su valioso apoyo.

Al personal del CESAVEGRO que participó en el desarrollo de las actividades en campo del presente trabajo. Y al Ing. Mellin del Centro Nacional de Referencia por su disposición incondicional, asesoría y experiencia compartida.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente hicieron posible el cumplimiento de una meta más en mi formación académica y profesional.

Datos biográficos



Bruno Laureano Ahuelicán, es originario del Municipio de Quechultenango, del Estado de Guerrero. Nació el 06 de octubre de 1979. Cursó sus primeros estudios de 1985 a 1994 en Ahuacatepec, Municipio de Quechultenango, Guerrero. En 1994 ingreso a la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Formó parte de la generación 1997 – 2001 de la especialidad de Parasitología Agrícola en donde obtuvo el grado de Ingeniero Agrónomo especialista en Parasitología Agrícola. En el 2001 regresa a su Estado natal y se incorpora al área laboral desempeñando actividades diversas a través de Organismos no Gubernamentales, en el comité Estatal de Sanidad Vegetal y en el Consejo Citrícola del Estado de Guerrero. Desempeñó cargos de Coordinador de Campañas Fitosanitarias. En el periodo del 2006 al 2008 cursó la Maestría Tecnológica de Mercadotecnia en el Instituto de Estudios Universitarios en el Plantel Acapulco, obteniendo el grado de Maestro en Mercadotecnia con un promedio de 9.6. En Enero del 2012 se integra a la Maestría en Protección Vegetal. Y en el 2014 presenta su trabajo de Investigación para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Protección Vegetal.

Hongos entomopatógenos en el control de *Diaphorina Citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae), en Acapulco de Juárez, Guerrero.

Entomopathogenic fungi in the control of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), in Acapulco de Juárez, Guerrero.

Bruno **Laureano Ahuelicán**¹ y Juan Fernando **Solís Aguilar**²

Resumen

Con la finalidad de conocer la efectividad en campo de cuatro cepas de hongos entomopatógenos en poblaciones de *D. citri* en base a su virulencia se realizaron dos evaluaciones de 3 cepas de *Isaria fumosorosea* (Pf15, Pf17 y Pf21) y una de *Metarhizium anisopliae* (Ma59). Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con cinco tratamientos (4 cepas y un testigo) y cinco repeticiones, el sitio de muestreo fueron brotes vegetativos. Las evaluaciones se realizaron en agosto del 2012 y mayo 2013. Las variables evaluadas fueron el número de ninfas y adultos micosados por brote. El análisis estadístico de los datos determinó que hubo diferencia significativa entre los tratamientos. Considerando el porcentaje de mortalidad por micosis comprobada, en la primera evaluación la mejor cepa fue la Pf21, la cual registró una mortalidad del 51.72% en ninfas presentes por brote y un 32.28 % considerando la población de ninfas y adultos; en la segunda evaluación las cepas Pf15, Pf17 y Pf21 mostraron los mejores porcentajes de mortalidad de micosis comprobada en ninfas con 30.17, 35.17 y 42.56 % respectivamente, y en la población total (ninfas + adultos) se registró el mismo comportamiento, en ambas variables fueron estadísticamente iguales.

Palabras clave: *Diaphorina citri*, virulencia, hongo entomopatógeno, porcentaje de mortalidad.

Abstract

In order to determine the effectiveness in field of four strains of entomopathogenic fungi into populations of *D. citri*, based on their virulence, two evaluations of 3 strains of *Isaria fumosorosea* (PF15, PF17 and PF21) and *Metarhizium anisopliae* (MA59) were performed. A random design of complete blocks was used with five treatments (4 strains and a control) and five repetitions, the sampling site was vegetative shoots. Evaluations were performed in August 2012 and May 2013. Variables evaluated were the number of nymphs and adults infested by the fungi on each shoot. The Statistical analysis of the data determined that there was significant difference between treatments. Considering the percentage of mortality caused by mycosis in the first assessment, the best strain was Pf21, which recorded a mortality of nymphs of 51.72% per shoot and 32.28% considering the population of nymphs and adults; in the second evaluation the Pf15, Pf17 and Pf21 strains showed the best mortality rates of mycosis in nymphs with 30.17%, 35.17% and 42.56% respectively, and in the total population (nymphs + adults) the same behavior was registered, it was statistically equal in both variables.

Key words: *Diaphorina citri*, virulence, entomopathogenic fungus, percentage of mortality.

¹ Tesista

² Director

Índice

	Pagina
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	vi
Datos biográficos	v
Resumen	vi
Abstract	vi
Índice	vii
Índice de cuadros	ix
Índice de figuras	x
1. Introducción	1
2. Objetivos	4
3. Hipótesis	5
4. Revisión de literatura	6
4.1. Importancia económica del limón mexicano	6
4.2. Psílido asiático de los cítricos	8
4.2.1. Importancia económica	8
4.2.2. Clasificación taxonómica	9
4.2.3. Distribución	10
4.2.4. Hospedantes	12
4.2.5. Biología	12
4.2.6. Estados de desarrollo y descripción morfológica	13
4.2.7. Daños	15
4.2.8. Métodos de control de <i>D. citri</i>	16

4.3. Mecanismo de acción de los entomopatógenos	23
5. Materiales y métodos	25
5.1. Ubicación del experimento	25
5.2. Tratamientos y diseño experimental	26
5.3 Identificación de los brotes a tratar.....	27
5.4. Preparación de las cepas previo a la aplicación.....	28
5.5. Aplicación de la suspensión.....	28
5.6. Manejo de los brotes seleccionados y traslado a laboratorio.....	29
5.7. Variables evaluadas.....	30
5.8. Análisis de datos.....	31
6. Resultados y discusión	32
6.1. Ninfas de <i>Diaphorina citri</i>	32
6.2. Adultos de <i>Diaphorina citri</i>	35
6.3. Ninfas y adultos de <i>Diaphorina citri</i>	37
7. Conclusiones	44
8. Literatura consultada	45
9. Apéndice	53

Índice de cuadros

	Pagina
Cuadro1. Producción de limas y limones a nivel mundial en el ciclo 2012	6
Cuadro 2. Producción de limón en el Estado de Guerrero	7
Cuadro 3. Tratamientos evaluados	26
Cuadro 4. Porcentaje de ninfas de <i>D. citri</i> con micosis en la primera y segunda evaluación, y prueba de comparación múltiple de medias (Tukey)	33
Cuadro 5. Porcentaje de adultos de <i>D. citri</i> con micosis en la primera evaluación (2013) y prueba de comparación múltiple de medias (Tukey)	36
Cuadro 6. Porcentaje de adultos y ninfas de <i>D. citri</i> con desarrollo de micosis en la primera y segunda evaluación, y prueba de comparación múltiple de medias (Tukey).....	38

Índice de figuras

	Pagina
Figura 1. Distribución mundial de los psílidos vectores del huanglongbing de los cítricos (<i>Diaphorina citri</i> y <i>Trioza erytreae</i>).....	11
Figura 2. Estados biológicos de <i>Diaphorina citri</i> . (A) Adulto, (B) y D) Ninfa, C) huevo.....	14
Figura 3. Síntomas de daños directos de <i>D. citri</i>	15
Figura 4. Síntomas que causa el huanglongbing.....	16
Figura 5. Ubicación de los sitios donde se desarrollaron las evaluaciones...	25
Figura 6. Distribución de los tratamientos en campo.....	27
Figura 7. Aplicación de los tratamientos. Identificación de brotes y aspersión de la suspensión (A), Colocación de bolsa de organza a los brotes identificados (B)	29
Figura 8. Cámara húmeda acondicionada para favorecer la esporulación de los hongos entomopatógenos.....	30
Figura 9. Temperatura media y humedad relativa en la primera aplicación (2012) de los hongos entomopatógenos en el predio de Limón mexicano...	34
Figura 10. Temperatura media y humedad relativa en la segunda aplicación (2013) de los hongos entomopatógenos en el predio de Limón mexicano.....	34
Figura 11. Porcentaje de mortalidad de las cepas de hongos entomopatógenos en ninfas del psílido asiático de los cítricos.....	35

Figura 12. Porcentaje de mortalidad de las cepas de hongos entomopatógenos en adultos del psílido asiático de los cítricos.....	37
Figura 13. Porcentaje de mortalidad de las cepas de hongos entomopatógenos en el psílido asiático de los cítricos (ninfas + adultos).....	39
Figura 14. Ninfas y adultos de <i>Diaphorina citri</i> con desarrollo de micosis causado por los hongos entomopatógenos. <i>Isaria fumosorosea</i> (A-K), <i>Metarhizium anisopliae</i> (L-O).....	42
Figura 15. Ninfas y adultos de <i>Diaphorina citri</i> afectados por agentes de control biológico. (A-C) ninfas parasitadas, (D-F) Adultos micosados.....	43

**Hongos entomopatógenos en el control de *Diaphorina Citri*
Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae), en Acapulco de Juárez,
Guerrero.**

1. Introducción

El cultivo de cítricos a nivel mundial es una actividad de importancia económica y social; estadísticas de la FAO (2014), indican que la producción mundial de limas y limones en el ciclo 2012 fue de 15´118,462.20 toneladas de una superficie cosechada de 980,949.10 hectáreas. México se ubica en el tercer sitio en producción y superficie cosechada, únicamente superado por India y China, que se ubican en el segundo y primer lugar respectivamente.

El cultivo de limón mexicano *Citrus aurantifolia* Swingle en México, representa una importante fuente de ingresos para diversas familias, en el 2012 se obtuvo una producción de 1´041,349.39 toneladas de una superficie sembrada de 83,317.83 hectáreas, con valor estimado de \$ 2´535,221.71 (miles de pesos) (SIAP, 2012).

En el Estado de Guerrero se tiene una superficie establecida de 6,860.50 hectáreas, en el 2012 se registró una producción de 74,869.18 toneladas (SIAP, 2012); de la explotación de este cultivo se benefician de manera directa 4,471 productores en donde se emplea la unidad familiar, de manera indirecta se benefician jornaleros para el desarrollo de actividades culturales empleándose en promedio 7 jornales por hectárea.

La superficie establecida en el Estado de Guerrero se encuentra distribuida en la franja costera, destacando el Municipio de Acapulco de Juárez con una superficie establecida de 3,167 hectáreas que representa el 46% de la superficie total de la entidad.

El cultivo es afectado por diversas plagas, siendo el Psílido Asiático de los Cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) la más importante para la citricultura a nivel nacional, por los daños directos e indirectos al transmitir la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, que es el agente causal de la enfermedad conocida como Huanglongbing (HLB), considerada como la enfermedad más devastadora para los cítricos al ser responsable de la pérdida de al menos diez millones de árboles en zonas citrícolas (da Graça, 2008), y representa una gran amenaza para la industria a nivel mundial ya que está invadiendo todas las superficies citrícolas (Bové, 2006).

A pesar de las investigaciones realizadas en México y en otros países no se ha encontrado un método de control del Huanglongbing en las plantaciones afectadas, por lo que el manejo está orientado a abatir las poblaciones de *Diaphorina citri*.

La Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV), a través del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRCB) con la finalidad de brindar a los productores una alternativa de control del insecto que encaje en los diferentes esquemas de producción sin tener un impacto negativo en el medio ambiente y usuarios, realizó la evaluación de la colección de cepas de hongos

entomopatógenos en poblaciones de *Diaphorina citri* bajo condiciones de laboratorio, encontrando que las cepas Pf21, Pf17 y Pf15 de *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) y a la cepa Ma59 de *Metarhizium anisopliae*, causaron una mortalidad superior al 90%. Estas cepas se evaluaron en campo en el Estado de Colima y se obtuvo mortalidad de hasta 90.27% (Mellin *et al.*, 2011).

Por lo anterior y con la finalidad de tener evidencia del efecto de control de estas cepas de hongos entomopatógenos en la zona citrícola del municipio de Acapulco de Juárez, Guerrero, para incluirlas en los programas de manejo de *D. citri*, se realizó el presente trabajo en coordinación con el Comité Estatal de Sanidad Vegetal y el CNRCB de la DGSV.

2. Objetivos

- 1) Determinar el efecto de control en campo de las cepas de hongos entomopatógenos Pf21, Pf17, Pf15 y Ma59 en ninfas y en adultos de *Diaphorina citri*, en Acapulco de Juárez, Guerrero.
- 2) Seleccionar las cepas con mayor potencial patogénico con base en porcentaje de mortalidad en el control en campo de *Diaphorina citri*, en Acapulco de Juárez, Guerrero.
- 3) Determinar el mejor periodo para la aplicación de las cepas de hongos entomopatógenos en Acapulco de Juárez, Guerrero.

3. Hipótesis

- 1) Ho: Las cepas de hongos entomopatógenos Pf21, Pf17, Pf15 y Ma59 tienen el mismo efecto de control en ninfas y adultos de *Diaphorina citri*.

Ha: Al menos una de las cepas de hongos entomopatógenos Pf21, Pf17, Pf15 y Ma59 tiene un efecto de control diferente en ninfas y adultos del *Diaphorina citri*.

- 2) Ho: El periodo de aplicación de las cepas de hongos entomopatógenos Pf21, Pf17, Pf15 y Ma59 no influye en el efecto de control en ninfas y adultos de *Diaphorina citri*.

Ha: El periodo de aplicación de las cepas de hongos entomopatógenos Pf21, Pf17, Pf15 y Ma59 influye en el efecto de control en ninfas y adultos de *Diaphorina citri*.

4. Revisión de literatura

4.1. Importancia económica del limón mexicano

Almaguer y Mamani (2012), mencionan que en México existen 150,000 unidades de producción de naranja y limas, y que se tiene registrado un promedio de 2.8 hectáreas por productor. En particular las limas y limones a nivel mundial representan una importante industria citrícola, como se aprecia en el cuadro 1, en donde en el ciclo 2012 se registró una producción de 15,118,462.20 toneladas, destacando China, India y México, quienes se ubican en primero, segundo y tercer lugar respectivamente; los cuales acumulan el 43.60 % de la producción total (FAO, 2014). El INIFAP (2006), cita a México como el principal productor de limón mexicano *Citrus aurantifolia* Swingle a nivel mundial.

Cuadro1. Producción de limas y limones a nivel mundial en el ciclo 2012.

País	Producción (toneladas)	Superficie Cosechada (Ha)
China	2,322,000.00	111,600.00
India	2,200,000.00	225,000.00
México	2,070,764.00	150,684.00
Argentina	1,300,000.00	43,500.00
Brasil	1,208,275.00	47,349.00
Estados Unidos de América	771,110.00	22,258.00
Otros	5,246,313.20	380,558.10
	15,118,462.20	980,949.10

Fuente: FAO, 2014.

A nivel nacional en el ciclo 2012 se registró una superficie establecida de limón mexicano de 83,317.83 hectáreas, una producción de 1´041,349.39 toneladas y un valor estimado de \$ 2´535,221.71 (miles de pesos), concentrándose la producción en los Estados de Michoacán, Colima, Oaxaca y Guerrero en el mismo orden de importancia, con el 45.48, 32.87, 8.96 y 7.18% de participación respectivamente; la suma de los 4 estados representan el 94.50% de la superficie total en México (SIAP, 2012).

En el Estado de Guerrero el limón mexicano es el principal cítrico establecido (Cuadro 2), con una superficie de 6,860.50 hectáreas, una producción de 74,869.18 toneladas y un valor de la producción estimado en \$ 204,551.07 (miles de pesos) (SIAP, 2012). De este cultivo se benefician un promedio de 4,471 productores de manera directa y se realiza la contratación de por lo menos tres jornales por hectárea para el control de plagas y enfermedades con un costo promedio de \$ 150.00 por día (CESAVEGRO, 2010).

Cuadro 2. Producción de limón en el Estado de Guerrero.

No.	Municipio	Superficie Sembrada (Ha)	Superficie Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
1	Acapulco de Juárez	3,167.00	3,167.00	38,853.78	112,029.26
2	Cuajinicuilapa	1,066.50	1,066.50	10,586.30	25,204.11
3	San Marcos	749.00	749.00	9,211.90	25,392.06
4	Florencio Villarreal	488.00	488.00	5,120.80	14,456.21
5	Coyuca De Benítez	372.00	372.00	2,852.78	7,114.42
6	Otros	1,018.00	1,009.00	8,243.62	20355.02
	Total	6,860.50	6,851.50	74,869.18	204,551.07

Fuente: SIAP 2012.

4.2. Psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*)

4.2.1. Importancia económica

El psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) se asoció como vector del HLB reportada por primera vez en China en 1919, asociándose a la variante asiática de *Candidatus Liberibacter* agente causal del HLB; en Tailandia se reportó una pérdida del 10 al 15% de las plantaciones de mandarina año con año (Bové, 2006). Se reportan más de 63 millones de árboles muertos por esta enfermedad en Asia, Sudáfrica y Brasil (Bové 2008; citado por Manzanilla, *et. al.* 2010); estas epidemias se dan por la capacidad de dispersión de *D. Citri* vector de la enfermedad (Capoor *et al.*, citados por Manzanilla, *et. al.* 2010), en donde la incidencia ha llegado a ser de hasta el 95% en un lapso de 3 a 13 años después de la detección de los primeros síntomas (Aubert *et al.*, 1984; Gottwald *et al.*, 1989; Gottwald *et al.*, 1991; Bassanezi, 2010; Bassanezi *et al.*, 2006; Gatineu *et al.*, 2006; Gottwald *et al.*, 2007a, 2007b; citados por Manzanilla, *et. al.* 2010). En el Estado de Colima con la presencia de *D. citri*, la incidencia del HLB en huertos de limón mexicano se incrementó de 92 a 95% en solo un mes (Esquivel *et. al.*, 2010).

En el año 2004 se realizó la detección del psílido asiático en el Estado de Colima, 2 años después en el 2006 se encontraba totalmente dispersada en huertos comerciales en donde fue posible observar los daños directos que causa al follaje y fue en el mes de abril del 2010 donde se confirma la presencia del HLB en muestras analizadas del insecto vector (Flores *et. al.*, 2010 y

Manzanilla *et. al.* 2010) ; se estima que el incremento en el costo de producción del cultivo de limón en la entidad por las aplicaciones de insecticidas es del 50%; y debido al costo y a la dificultad en la aplicación muchos productores han optado por el abandono de las plantaciones (Manzanilla, *et. al.* 2010).

En los municipios de Tecomán y Armaría del Estado de Colima en el 2010 se eliminaron 423 plantas de limón mexicano enfermas en huertos comerciales, 972 plantas de limonarias en zonas urbanas y 1´402,529 plantas en viveros producidos sin malla antiáfidos (Flores *et. al.*, 2010).

4.2.2. Clasificación taxonómica

Reino:	Animal
Phylum:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden:	Hemiptera
Familia:	Psyllidae
Género:	<i>Diaphorina</i>
Especie:	<i>Diaphorina citri</i>

Fuente: Martinez, (S/f).

4.2.3. Distribución

Se reportan 2 vectores del HLB, *D. citri* y *Trioza erytreae*, en México únicamente se tienen reportes de presencia del primero, el cual es un insecto originario de Asia descrito por primera vez en Taiwán en 1907 (Albert y Núñez, 2004). Bové, (2006) menciona que se encuentra presente en las Islas del Atlántico desde 1994 en Madeira; en Medio Oriente se reportó en Irán en 1997, el primer reporte en el continente americano se dio en Brasil en 1940 sin tomar importancia hasta el 2004 con la detección del HLB, en 1997 se reportó en Argentina, en 1999 en Venezuela, en 1998 en Guadalupe y en el 2002 en República Dominicana y Puerto Rico (Figura 1).

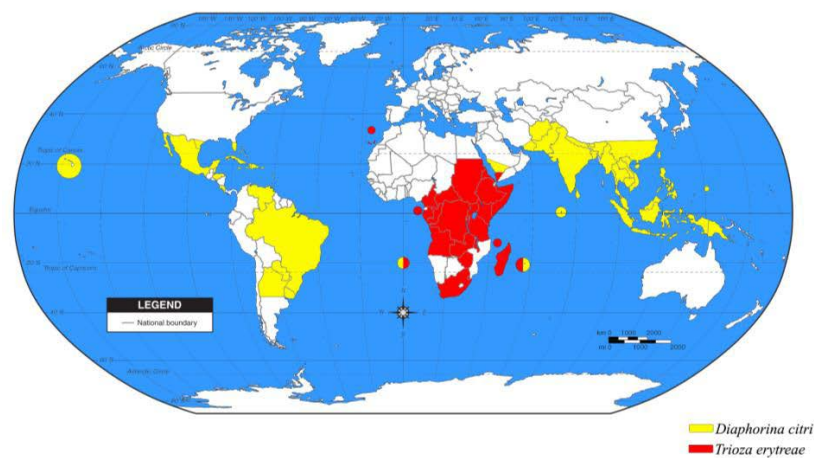
Las detecciones en Cuba y Belice, se reportaron en 2001 y 2002, respectivamente (Albert y Núñez, 2004).

Burckhard y Martínez (1989) reportaron una detección de *D. citri* en Francia en plantas provenientes de Honduras, que fueron reacondicionadas en Estados Unidos, sin embargo fue difícil verificar ya que para ingresar plantas a los Estados Unidos tienen que pasar por una estricta vigilancia de cuarentena (citados por Albert y Núñez, 2004).

En Estados Unidos se detectó en Junio de 1998 en Florida en plantas de traspatio de *Murraya paniculata* (Halbert, 1998, 2005; Halbert *et al.*, 2003, 2004, citados por Bové, 2006), presentándose la primera detección de HLB siete años después.

El primer reporte oficial de *Diaphorina citri* en México se da en el Estado de Querétaro en el 2002 (SENASICA, s/f); en este mismo año Miranda y López (2010) mencionan que el insecto fue encontrado en los Estado de Campeche y Quintana Roo y para el 2008 se encontraba distribuido en todo el país.

El primer reporte del Huanglongbing en México se obtiene de una muestra de psílidos colectadas en el Municipio de Tizimín, Yucatán, en el 2009 (SAF, 2009), la dispersión del insecto ha permitido la diseminación de la enfermedad que a la fecha se encuentra presente en los Estados de Yucatán, Quintana Roo, Nayarit, Jalisco, Campeche, Colima, Sinaloa, Michoacán, Chiapas, Baja California Sur, Hidalgo, Tabasco, Guerrero, Puebla y Zacatecas; la detección en el Estado de Guerrero se confirma en el mes de Marzo del 2013 (SENASICA, 2014).



Fuente: SENASICA, S/f

Figura 1. Distribución mundial de los psílidos vectores del Huanglongbing de los cítricos (*Diaphorina citri* y *Trioza erytreae*).

4.2.4. Hospedantes

El rango de hospedantes del psílido asiático de los cítricos abarca 25 géneros de la familia Rutaceae (Helbert y manjunath, 2004; citados por Grafton *et al.*, 2006). Se reportan como hospedantes plantas de *Citrus* spp., *Murraya paniculata* ((L.) Jack), *M. koenigii*, *Severinia buxifolia*, y otras especies de rutaceas (Hall, 2008). Las especies preferenciales son *Murraya paniculata*, *M. exótica* y *Citrus aurantifolia* (Bové, 2006).

4.2.5. Biología.

Los psílidos son insectos hemimetábolos, miden de 3 a 4 mm de longitud, su ciclo de vida es muy corto y pasa por 3 estados: huevo, ninfa y adulto; en ninfa pasa por 5 instares y para alcanzar su desarrollo de huevo a adulto requiere de 16 a 17 días y bajo condiciones favorables pueden presentarse hasta 30 generaciones al año (Grafton *et al.*, 2006).

Robles *et al.* (2010), indica que el ciclo de vida de *D. citri* varía dependiendo del hospedante, en el limón mexicano el ciclo de vida es de 21.8 a 27.8 días en y en limón persa de 20.4 a 25.4 días.

El psílido es un insecto chupador que al alimentarse inserta su aparato bucal a los haces vasculares de la planta; tanto las ninfas como los adultos de alimentan de brotes tiernos y al hacerlo secretan mielecilla, lo que provoca la presencia de fumagina, los huevecillos son depositados en los brotes tiernos (Hall, 2008).

4.2.6. Estados de desarrollo y descripción morfológica

Huevos

La hembra adulta pone sus huevos en los brotes en desarrollo, son de forma ovoide, alargados, con prolongación en un extremo, recién depositados son de color amarillo claro, posteriormente se tornan de color anaranjado brillante (Figura 2C). Miden aproximadamente 0.33 mm de longitud y 0.14 mm de ancho. El número de huevos depende del tipo de hospedante, en observaciones realizadas en pomelo se registró un promedio de 857 huevos por hembra, mientras que en limón rugoso fue de 572. A una temperatura de 25°C los huevos eclosionan a los 4 días (Tsai y Liu, 2000; citados por Grafton, 2006). Robles *et al.* (2010) observaron que en limón mexicano en el Estado de Colima el periodo de duración del huevo fue de 4 a 6 días.

Ninfa

Las ninfas miden de 0.25 a 1.7 mm, son de color amarillo – naranja, este estado comprende 5 estadios ninfales, en los últimos instares se logran apreciar los paquetes alares (Figura 2 B y D), se mueven de forma muy lenta y se alimentan exclusivamente de brotes tiernos y al realizarlo secretan mielecilla cerosa (Grafton, 2006). El desarrollo del primer instar al quinto instar varía de 10 a 14 días (Robles *et al.*, 2010).

Adulto

Los adultos son de color marrón, se alimentan del envés de la hoja y al realizarlo forman un ángulo de 45° en relación a la hoja (Figura 2A). Aubert (1998), citado por Rodríguez (2009), menciona que el cuerpo está cubierto de polvo ceroso, tienen ojos rojos, cabeza marrón claro y las alas anteriores son más anchas en el extremo, las hembras tienen un tamaño promedio de 3.3 mm de largo y 1 mm de ancho; los machos miden en promedio 2.7 mm de largo y 0.8 mm de ancho. Robles *et al.* (2010), observaron en limón mexicano una longevidad promedio de 7.8 días.

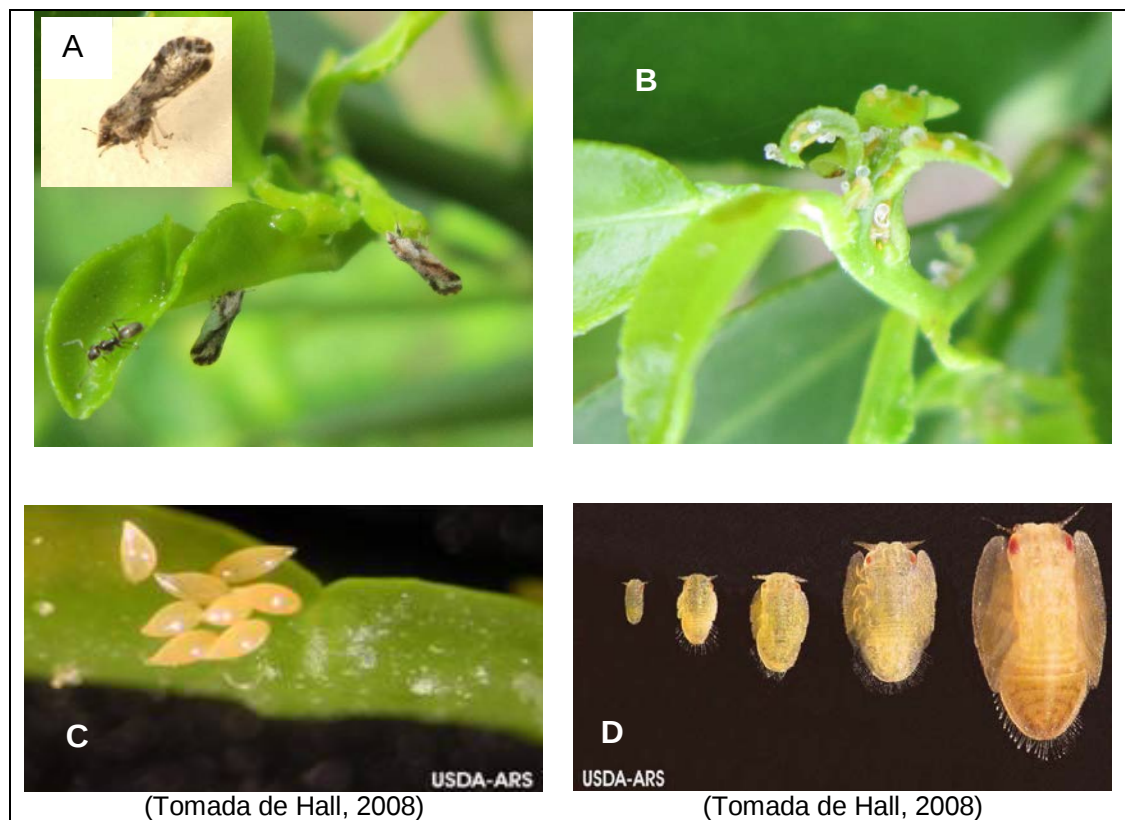


Figura 2. Estados biológicos de *Diaphorina citri*. (A) Adulto, (B) y D) Ninfa, (C) huevo.

4.2.7. Daños

Los daños que causa esta plaga son directos al alimentarse de la savia e indirectos por ser vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. Al alimentarse extrae grandes cantidades de savia e inyecta toxinas causando la deformación de brotes y hojas (Figura 3), secreta una mielecilla la cual favorece el desarrollo de fumagina (Michaud, 2004; citado por Grafton, 2006).



Figura 3. Síntomas de daños directos de *D. citri* (Tomado de Martínez (S/f)).

En el Estado de Colima se han observado altas infestaciones durante todo el año, han provocado la caída de hojas y muerte de brotes, afectando el rendimiento al no permitir la emisión y desarrollo de nuevos brotes vegetativos; sin embargo, el principal daño es debido a que es el responsable de la diseminación del Huanglongbing (Robles *et al.*, 2010).

El Huanlongbing es un enfermedad que a la fecha no se ha encontrado cura alguna y a nivel mundial ha causado la muerte de millones de árboles (Bové, 2008).

Los síntomas que causa van desde puntos cloróticos, manchas angulares, acorchamiento, engrosamiento de nervaduras, moteados y clorosis difusa hasta

que el amarillamiento en la lámina foliar es generalizado y ocurre la defoliación (Figura 4), en frutos causa una maduración irregular, deformación y desarrollo asimétrico (Mora, S/f).



Figura 4. Síntomas que causa el huanglongbing (Tomadas de Mora (S/f)).

4.2.8. Métodos de control de *D. citri*

Control químico

Para el control de *Diaphorina citri* se recomienda un calendario de aplicaciones de forma permanente al tratarse como vector de la bacteria *Candidatus*

Liberibacter spp. Irey *et al.* (2008), mencionan que desde la detección del Huanglongbing en plantaciones comerciales de la empresa Southern Gardens Citrus Corporation en el mes de octubre del 2005, en el estado de Florida, se intensificaron acciones para bajar la fuente de inóculo y se intensificó el control químico del insecto para abatir las poblaciones, basado dicho control en el monitoreo permanente y aplicaciones calendarizadas de agroquímicos.

En el estado de Morelos, Rodríguez (2009), para el control de *Diaphorina citri* en el cultivo de naranja observó que la mezcla de imidacloprid + deltametrina a una dosis de 0.5 L ha⁻¹ tiene un control eficiente en adultos y ninfas de hasta un 100%, thiametoxan a una dosis de 0.6 kg ha⁻¹ y spiromesifen a una dosis de 0.5 kg ha⁻¹ pueden causar la muerte del 100% de ninfas (N3, N4 y N5).

En el Estado de Veracruz el producto Actara® aplicado al suelo en árboles de limón persa registró una eficiencia de control de un 81 a 87 % de mortalidad en adultos y de un 95 al 97% en ninfas (Díaz, 2010).

Díaz *et al.* (2011), indican que al menos 30 productos químicos han podido causar la muerte de hasta el 85 % de insectos en plantaciones comerciales de cítricos, en su estudio presentaron esquemas de control a implementar en función de la biología de la plaga y la fenología del cultivo para cada zona específica en el Estado de Veracruz, considerando la rotación por grupo toxicológico y modo de acción de cada producto, indicando que la estrategia de control debe ser mediante un enfoque regional.

En Sonora, Fontes *et. al.* (2011), evaluaron 8 diferentes tipos de aceite para el control de *D. citri*, observando un buen control en ninfas con los productos Oroboost®, Mosei® y Agro-siamil®+Gardytec recomendando su uso en plantaciones de porte bajo.

Mora (S/f), menciona que en México los insecticidas abamectina e imidacloprid aplicados al follaje reducen significativamente la población de ninfas en el cultivo hasta los veinte días posteriores a la aplicación, proporcionando niveles de control por encima del 90%. En Brasil y Estado Unidos la supresión de las poblaciones de *Diaphorina citri* se realiza con un riguroso calendario de aplicaciones de insecticidas, lo que incrementa el costo de producción hasta en un 40%.

En Nayarit se realizaron pruebas de efectividad en huertos comerciales de lima persa de productos químicos de diferentes mecanismos de acción contra *D. citri*, en donde se observó que el dimetoato, imidacloprid y la mezcla de imidacloprid + betaciflutrina ejercieron un control del 85 al 100% en ninfas (Hernández, *et al.* 2012).

En Michoacán, López (2012) encontró que en el control de adultos y ninfas de *Diaphorina citri* en limón mexicano los productos Muralla Max ® y el Dimetoato tienen una efectividad biológica del 99 %, mientras que Pure Spray ® y Mustang Max registraron una efectividad biológica del 78% en adultos y en ninfas del 83 al 87% de efectividad.

Hernández *et al.* (2013), evaluaron el efecto de control de espirotetramato e imidacloprid al suelo y al follaje contra *D. citri* en lima persa, observando mejores resultados mediante la aplicación al follaje con promedios de ninfas del 89.6% y 87.5%.

Macías *et al.* (2013) encontró que el aceite mineral (al 1 y 2%), las sales de ácidos grasos (al 0.75 y 1%) y el abamectin tienen un control eficiente en ninfas de *D. citri* a un bajo costo, causando porcentajes de control del 75 al 90%, sin tener efectos negativos en las poblaciones de enemigos naturales.

Ruíz (2013), encontró que el Aceite Parafinico tiene efecto de control en huevecillos de *D. citri* y el Imidacloprid retarda la eclosión; mientras que en ninfas y adultos el Imidacloprid, el Imidacloprid + Betacyflutrin y el Imidacloprid + Lambda cyalotrina causaron una mortalidad del 100%.

Desde la detección del HLB en el 2011 se iniciaron aplicaciones de productos químicos para el control de *Diaphorina citri* para evitar la diseminación de la enfermedad, a partir del 2012 se establecieron las Áreas Regionales de Control (ARCOs) en donde se contemplan aplicaciones calendarizadas de productos de bajo impacto en huertos de cítricos mediante un enfoque regional y justificado con las detecciones de las poblaciones mediante el monitoreo de ninfas y adultos, estrategia que sigue implementándose a la fecha para reducir las poblaciones del insecto (SENASICA, 2014a).

Bayer de México (2014) obtuvo el registro de Muralla Max (imidacloprid y betacyflutrin) para su uso en cítricos contra *D. citri*, insecticida que cuenta con

tolerancia en Estados Unidos y Europa, lo que permite y garantiza la exportación de la fruta y sus derivados, su formulación de dispersante en aceite evita daños al cultivo, resistente al lavado de lluvia y mejora la retención del producto en el follaje (<http://www.bayer.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/id/9678CB600E7105BFC12577FA0054AEA6>, consulta realizada el 30 abril 2014).

En el 2013 en Nueva Italia, Michoacán, Syngenta Agro (2014) realiza el lanzamiento de Actara (thiametoxan), con la finalidad de aportar soluciones en el control de *D. citri*, producto que ofrece un control eficiente y prolongado ofreciendo además vigor a las plantas (<http://www.syngenta.com.mx/apatzingan-.aspx> consulta realizada el 30 abril 2014).

Control biológico

Hall (2008), menciona que en todas las zonas geográficas con presencia del psílido asiático, sus poblaciones son afectadas de manera natural por agentes de control biológico como escarabajos, syrphidos, crisopas, arañas, parasitoides y hongos entomopatógenos. En México, se han identificado 17 géneros y 15 especies de coccinélidos asociados a *Diaphorina citri* (Lomelí *et al.*, 2010); en el valle de Apatzingán Miranda y López (2010a) reportan la presencia de diferentes depredadores como arañas, *Chrysoperla rufilabris*, *Zelus renardii*, entre otros. Sánchez *et al.* (2010) mencionan que *Tamarixia radiata* reduce considerablemente el número de ninfas, por lo que en la estrategia del SENASICA-DGSV para el control de *D. citri* se considera la cría masivas de este insecto.

Meyer *et al.* (2008) aislaron y caracterizaron una cepa del hongo entomopatógeno *Isaria fumosorosea* que causó la muerte de manera natural de adultos de *Diaphorina citri* en plantaciones comerciales de cítricos en Florida. Al evaluar estas cepas en campo, Hoy *et al.* (2008) mencionan que fueron muy pocos especímenes de ninfas y adultos afectados por el hongo, lo que puede deberse a que el patógeno no permite que los psílidos tratados se peguen al follaje, por lo que sugieren aislar los brotes tratados para poder estimar su efecto de mortalidad.

Reyes *et al.* (2010) observaron desarrollo de micosis del hongo entomopatógeno *Hirsutella* sp. en adultos de *D. citri* colectados en campo en Gómez Farías y en Rio Bravo, Tamaulipas, dichas muestras mostraron virulencia de hasta un 43 %. En Tuxpan, Veracruz González *et al.*, (S/f), reportan adultos de *D. citri* infectados por este hongo con una virulencia del 21.21 %.

Arredondo *et al.* (2010), citan que el programa de control biológico de *D. citri* en México es coordinado por el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, centrando los estudios en la producción y liberación de *Tamarixia radiata* y en el **uso de hongos entomopatógenos** en donde se ha encontrado que las cepas Pf15, Pf17 y Pf21 de *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) y a la cepa Ma59 de *Metarhizium anisopliae* han mostrado una mortalidad del 93.10 al 100 % en ninfas y del 40.13 al 95.22 % en adultos bajo condiciones de laboratorio. De ahí que se hace necesario el desarrollo de

protocolos específicos para cada zona citrícola y medir el efecto de control de cada cepa en campo.

Mellín *et al.* (2011), evaluaron el efecto de estas cepas en campo en huertos comerciales de limón mexicano en el Estado de Colima, la cepa Pf21 fue la que registró el mejor efecto de control con un 59.79 % de mortalidad, seguida de la Pf17 con un 45.93 %, la Pf15 con un 15.64 % y por último la cepa Ma59 con un 7.40 % de mortalidad. Previo a este estudio se hicieron pruebas de virulencia contra el parasitoide *Tamarixia radiata* y no se observó efecto de virulencia (Núñez *et al.*, S/f).

En Martínez de la Torre, Veracruz se evaluaron aislamientos de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea* (= *Paecilomyces fumosoroseus*) para el control de *D. citri* en huertos comerciales de naranja, observándose un nivel de mortalidad del 70, 50 y 50 % respectivamente, la concentración de los hongos fue de 1×10^8 para los 2 primeros y para el tercero de 1×10^7 (Sánchez *et al.*, 2011).

Gandarilla *et al.* 2013, bajo condiciones de laboratorio evaluaron 27 aislados nativos de México y 3 cepas de hongos entomopatógenos contra *Diaphorina citri*, observaron que los aislados HIB-24 (*Beauveria bassiana*) y el HIB-32 (*Isaria fumosorosea*) registraron una mortalidad del 60.66 % con aspersión directa a los insectos y el aislado HIB-19 de *I. fumosorosea* causó una mortalidad del 62.02 % con aspersión el follaje.

Para considerar el control biológico es necesario tener en cuenta la asociación entre hormigas y el psílido, Navarrete *et. al.* (2013) menciona que la presencia de hormigas afecta considerablemente el efecto de control de organismos benéficos. Por lo anterior en el presente estudio se tomaron consideraciones desde la selección y aislamiento de los brotes a evaluar para evitar sesgos o alteraciones en los resultados.

4.3. Mecanismo de acción de los hongos entomopatógenos

Téllez *et. al.* (2009) indican que el desarrollo de la enfermedad en el insecto se divide en tres fases: adhesión y germinación de la espora en la cutícula del insecto; penetración en el hemocèle y por último el desarrollo del hongo que termina con la muerte del insecto. Dichas fases consisten en:

- 1) Adhesión de la espora a la cutícula del hospedero y germinación de la espora. Inicia con la deposición de la espora en el insecto y se da en tres etapas sucesivas: adsorción de la espora en el insecto, consolidación entre la espora pregerminada y la epicutícula y finalmente, la germinación y desarrollo del apresorio.
- 2) Penetración en el hemocèle. Depende de las propiedades de la cutícula como el grosor, la esclerotización y la presencia de sustancias antifúngicas y nutricionales.
- 3) Replicación en el hemocèle. La micosis causa síntomas fisiológicos anormales en el insecto como convulsiones, carencia de coordinación, comportamientos alterados y parálisis.

Existen mecanismos de defensa de los insectos como barreras físico-químicas, sistema inmune innato, entre otras, que evitan el desarrollo de micosis; para que se dé la germinación de la espora en la superficie del insecto debe haber humedad relativa de por lo menos el 70 % por 14 horas (Pucheta *et al.*, 2006).

5. Materiales y métodos

5.1. Ubicación del experimento

El estudio se realizó en huertos de limón mexicano, ubicados en el municipio de Acapulco de Juárez, Guerrero, sin aplicaciones de insecticidas y fungicidas en el periodo de evaluación (Figura 5). Se realizaron 2 evaluaciones, la primera aplicación se realizó el 24 de agosto del 2012, en predio ubicado a los $16^{\circ}53'38.08''$ de latitud norte y $99^{\circ}45'38.94''$ de longitud oeste, la edad de la plantación fue de 4 años. La segunda aplicación se realizó el 17 de mayo del 2013, en un predio ubicado a los $16^{\circ}53'50.38''$ de latitud norte y $99^{\circ}46'44.64''$ de longitud oeste y la edad de la plantación fue de 2 años.

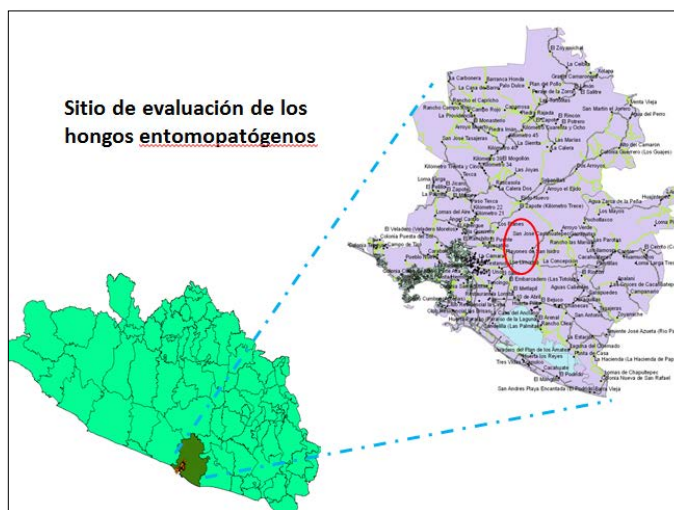


Figura 5. Ubicación de los sitios donde se desarrollaron las evaluaciones.

Previo a las aplicaciones se realizaron monitoreos en diferentes predios de una superficie mínima de 2 hectáreas y con una edad de plantación de 2 a 5 años. Se realizó un monitoreo visual para determinar un promedio mínimo de 20

ninfas vivas por brote (instares 1 y 2), así como para constatar la presencia de brotes tiernos y de ninfas de *D. citri*.

5.2. Tratamientos y diseño experimental

Como tratamientos se eligieron las cepas Pf15, Pf17 y Pf21 de *Isaria fumosorosea* y la Ma59 de *Metarhizium anisopliae* de la colección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria de la DGSV-SENASICA (Cuadro 3), más un testigo absoluto.

Cuadro 3. Tratamientos evaluados.

No. Tratamiento	Cepa	Especie	Dosis (Suspensión por tratamiento)
1	Pf15	<i>Isaria fumosorosea</i>	25 lt
2	Pf17	<i>I. fumosorosea</i>	25 lt
3	Pf21	<i>I. fumosorosea</i>	25 lt
4	Ma59	<i>Metarhizium anisopliae</i>	25 lt
5	Testigo	Sin aplicación	Sin aplicación

Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA) con cinco repeticiones y cinco tratamientos (4 cepas de hongos entomopatógenos y el testigo absoluto).

En la primera aplicación se seleccionaron 8 brotes por unidad experimental y en la segunda únicamente 4 brotes. Se dejó un surco entre bloques y por lo menos una planta entre cada tratamiento; para cada repetición se consideraron 3

plantas y los brotes seleccionados se tomaron del árbol central y en su defecto se completaron con los árboles contiguos (Figura 6).

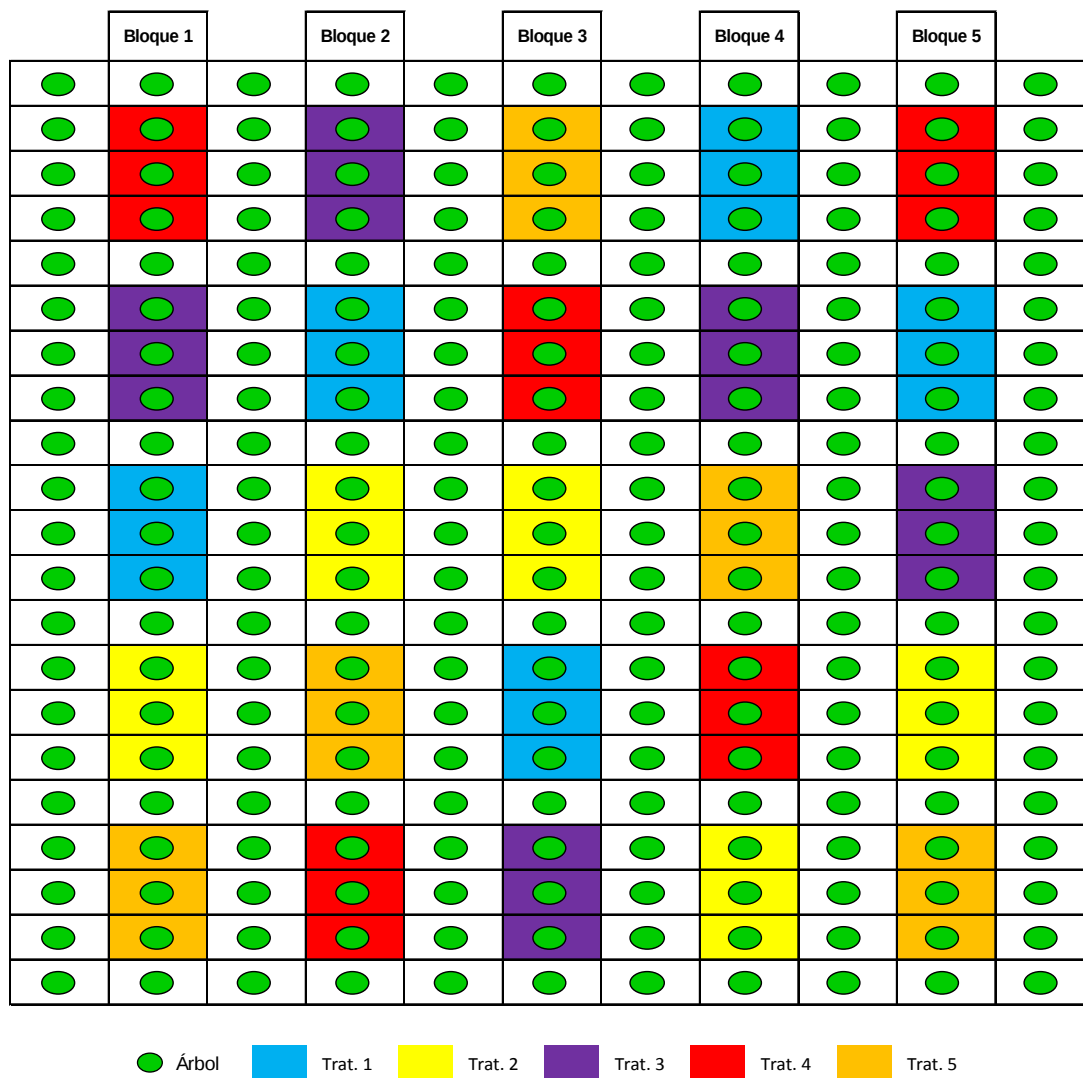


Figura 6. Distribución de los tratamientos en campo.

5.3. Identificación de los brotes a tratar

Por la mañana el día de la aplicación se ubicaron brotes con ninfas de *Diaphorina citri* (N1 y N2), identificándolos con listones distintivos para cada

tratamiento (Figura 7 A y B), se inspeccionaron para que estuvieran libres de hormigas y enemigos naturales y no afectaran los resultados.

5.4. Preparación de las cepas previo a la aplicación

Previo a la preparación de la suspensión, las bolsas que contenían los conidios de las cepas se abrieron y colocaron en un lugar fresco y sombreado por un periodo de 20 minutos, para exponerlas al medio ambiente y propiciar la rehidratación de las esporas con la humedad ambiental.

5.5. Aplicación de la suspensión

Se realizó el lavado del equipo y la calibración del mismo para medir el gasto de agua por tratamiento; para tener una mezcla homogénea de la suspensión primeramente al agua se le agregó el dispersante Inex-A (2 ml^{-1}), el aceite mineral (1 ml^{-1}) y finalmente la cepa de hongo entomopatógeno a una concentración de 1×10^7 conidios ml^{-1} .

La aplicación se realizó con aspersor de motor de la marca shindaiwa a una presión de 200 libras y se preparó 25 litros de mezcla para tratar los 15 árboles de las 5 repeticiones (Figura 7A). Para proteger los conidios de la radiación solar las aplicaciones se realizaron por la tarde (después de las 6:00 pm), cuando la temperatura descendió por debajo de los 30°C y con una humedad relativa superior al 60%.

5.6. Manejo de brotes seleccionados y traslado a laboratorio.

Al concluir la aplicación los brotes seleccionados e identificados con el listón distintivo para cada tratamiento se cubrieron con una bolsa de organza (Figura 7B), para evitar que las ninfas de *D. citri* fueran atacados por enemigos naturales o se desplazarán a otros lugares imposibilitando la estimación de mortalidad.

Se colocó un Data logger (WatchDog) en el centro del predio a la altura de los brotes tratados para el registró de temperatura y humedad relativa.

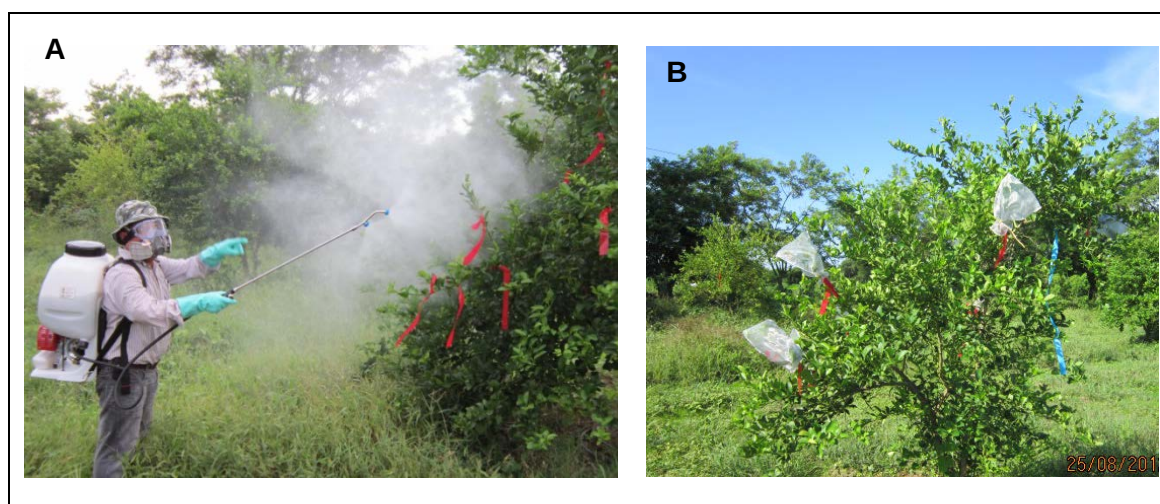


Figura 7. Aplicación de los tratamientos. Identificación de brotes y aspersión de la suspensión (A), Colocación de bolsa organza a los brotes identificados (B).

De cada periodo solo se realizó una evaluación, por lo que a los cinco días de la aplicación los brotes identificados y cubiertos con la bolsa de organza fueron retirados y trasladados a laboratorio de Plagas Agrícolas del Departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, trasladándolos en hieleras perfectamente identificados.

5.7. Variables evaluadas

Para el manejo de las muestras se acondicionaron cajas petri para su uso como cámaras húmedas como se ilustra en la figura 8, para favorecer la esporulación de los hongos entomopatógenos los brotes fueron colocados en refrigeración de donde se fueron retirando para contabilizar el número de ninfas y adultos (vivos, muertos y micosados).



Figura 8. Cámara húmeda acondicionada para favorecer la esporulación de los hongos entomoptatógenos.

Ninfas de *D. citri*

De cada brote se contabilizó el número de ninfas muertas y vivas **con micosis**. Para favorecer la esporulación de los hongos las ninfas vivas se ubicaron sobre parte de follaje del mismo brote en una caja petri con papel filtro húmedo.

Adultos de *D. citri*

De cada brote se contabilizó el número de adultos vivos y muertos **con micosis**. Para favorecer la esporulación de los hongos, los adultos vivos se

colectaron con un capturador y se colocaron en cajas petri con follaje del mismo brote.

Ninfas y adultos de *D. citri*

Se realizó la suma de ninfas y adultos **con micosis** para su análisis en conjunto.

Para la manipulación de los insectos se utilizaron agujas de disección independientes para individuos muertos y vivos respectivamente.

5.8. Análisis de datos

Los datos de las variables evaluadas: ninfas de *D. citri*, adultos de *D. citri*, ninfas y adultos de *D. citri* se les aplicó un análisis de varianza. Se efectuaron pruebas de comparación múltiples de medias utilizando el método de Tukey con un nivel de significancia al 5 % ($\alpha=0.05$). Este procedimiento se hizo con el software Statistical Analysis System (SAS®).

6. Resultados y discusión

6.1. Ninfas de *Diaphorina citri*.

Al analizar los datos registrados de número de ninfas con desarrollo de micosis, en los 2 periodos de evaluación el análisis de varianza detectó diferencias altamente significativas entre los tratamientos ($P < 0.0001$) como se aprecia en los Cuadros A y G del Apéndice.

Con la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey se determinó que si existe diferencia entre los tratamientos a través de la formación de grupos como se observa en el cuadro 4.

El mejor tratamiento de efecto de mortalidad asociada al desarrollo de micosis en ninfas de *Diaphorina citri* correspondió a la cepa Pf21 (T3), la cual registró un porcentaje de mortalidad de 51.72 y de 42.56 promedios por brote, en la primera y segunda evaluación respectivamente; en segundo lugar se ubicó la cepa Pf17 (T2) con un promedio de 28.56 y 35.17 % de ninfas micosadas por brote; seguida de la cepa Pf15 (T1) con un promedios de 12.03 y 30.91 %; y por último la cepa Ma59 (T4) que no mostró efecto estadístico de control ya que fue estadísticamente igual que el testigo absoluto en ambas evaluaciones.

Cuadro 4. Porcentaje de ninfas de *D. citri* con micosis en la primera y segunda evaluación, y prueba de comparación múltiple de medias (Tukey).

Tratamiento	Primera evaluación (2012)		Segunda evaluación (2013)	
	Promedio de ninfas por brote	Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)	Promedio de ninfas por brote	Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)
3	51.72	A *	42.56	A *
2	28.56	B	35.17	A
1	12.03	C	30.91	A
4	5.38	C	13.50	B
5	0.00	C	0.00	B

* Medias seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

En la primera evaluación la cepa Pf21 (T3) fue estadísticamente mejor y diferente a la demás cepas evaluadas; y en la segunda evaluación su efecto de mortalidad en ninfas fue similar al de las cepas Pf17 (T2) y Pf15 (T1).

Este resultado puede asociarse a las condiciones de humedad relativa, ya que en la primera evaluación se registró una humedad relativa ligeramente superior que en el periodo de la segunda evaluación (Figura 9 y 10); humedad suficiente para que la cepa Pf21 provocara una mortalidad superior a las demás cepas.

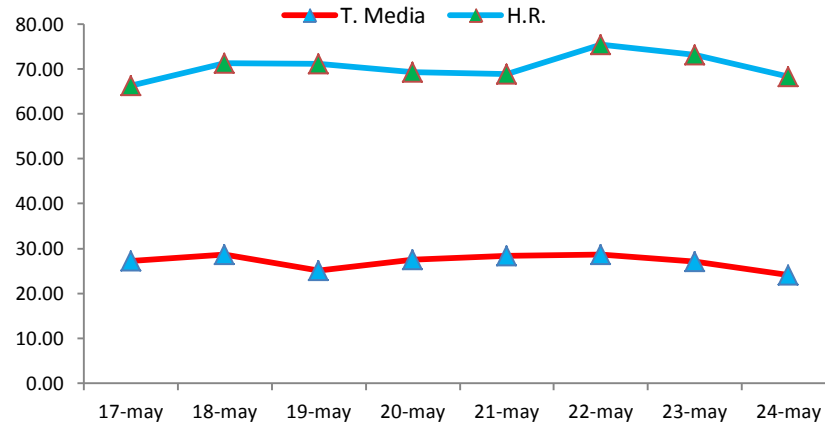


Figura 9. Temperatura media y humedad relativa en la primera aplicación (2012) de los hongos entomopatógenos en el predio de Limón mexicano.

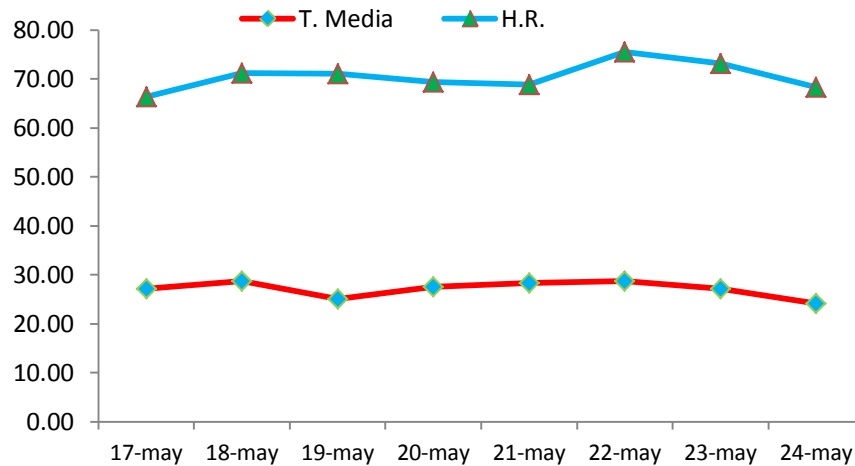


Figura 10. Temperatura media y humedad relativa en la segunda aplicación (2013) de los hongos entomopatógenos en el predio de limón mexicano.

Los resultados de mortalidad que se ilustran en la figura 11, muestran que la mejor cepa fue la Pf21 al registrar los valores más altos en las 2 evaluaciones con porcentajes de 51.72% y 42.56, respectivamente.

Dichos porcentajes son muy inferiores a los reportados por Arredondo *et al.* (2010), quienes obtuvieron porcentajes de mortalidad del 93.10 al 100 % en

ninfas, pero sí muy cercanos a los reportados por Gandarilla *et al.* 2013, en donde observaron que al asperjar el aislado HIB-19 de *I. fumosorosea* al follaje causó una mortalidad del 62.02%.

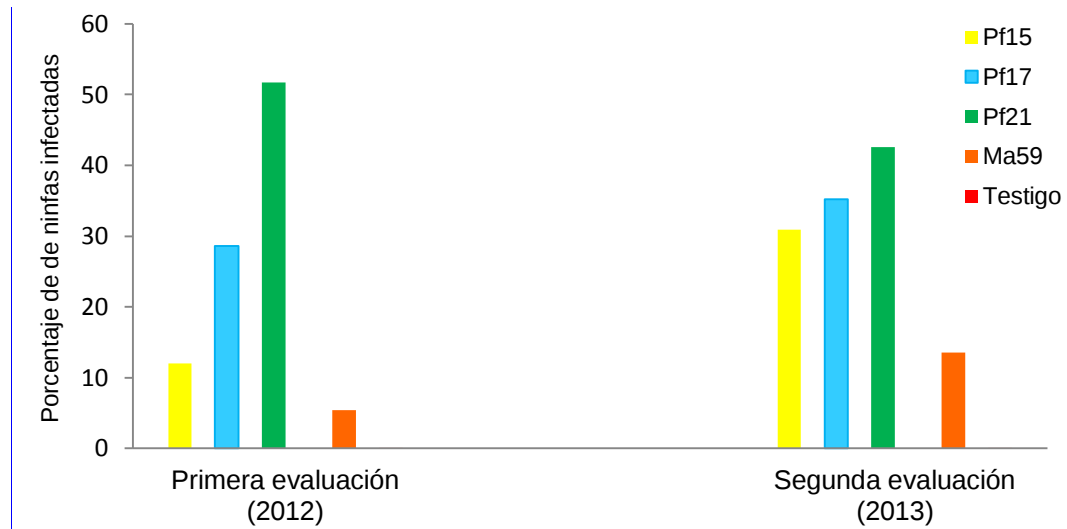


Figura 11. Porcentaje de mortalidad de las cepas de hongos entomopatógenos en ninfas del psílido asiático de los cítricos.

6.2. Adultos de *Diaphorina citri*

A pesar de observar poca presencia de adultos micosados, se determinó hacer el análisis de varianza para tener una referencia sobre el efecto de las cepas en etapa adulta.

Al analizar los datos, el análisis de varianza detectó diferencia significativa entre los tratamientos únicamente en la primera evaluación ($P=0.0073$) (Cuadro C e I del Apéndice).

En la segunda evaluación no se observaron adultos con desarrollo de micosis en ningún tratamiento.

Como se aprecia en el cuadro 5, los tratamientos Pf15, Ma59 y Pf17 (T1, T4 y T2) mostraron ser estadísticamente iguales con promedios por brote de 10.52, 7.38 y 2.18 de adultos de *D. citri* con desarrollo micelial. Sin embargo, estadísticamente el único tratamiento diferente al testigo resultó ser la cepa Pf15 (T1).

Cuadro 5. Porcentaje de adultos de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2013) y prueba de comparación múltiple de medias (Tukey).

Tratamiento	Promedio de adultos por brote	Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)
1	10.52	A *
4	7.38	A B
2	2.18	A B
3	0.54	B
5	0.00	B

* Medias seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

El porcentaje de mortalidad en adultos de *D. citri* no fue significativo, la cepa que registro el porcentaje más alto fue la Pf15 (Figura 12) con un porcentaje 10.52%.

Este resultado puede deberse a que los insectos adultos de *D. citri* al momento de la aplicación se les observó moviéndose a otras plantas, por lo que no fue posible controlar su permanencia en los brotes tratados, y como lo mencionan Meyer *et al.* (2008), los adultos y ninfas de *D. citri* no tienen capacidad de adherencia a los brotes.

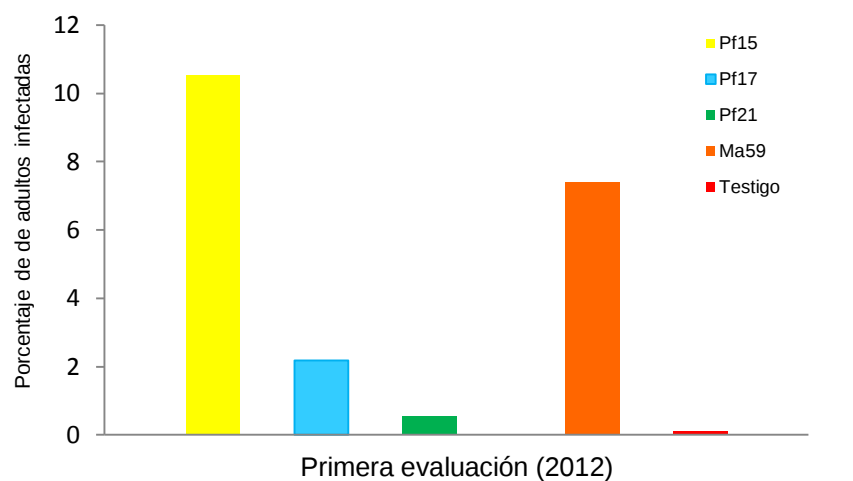


Figura 12. Porcentaje de mortalidad de las cepas de hongos entomopatógenos en adultos del psílido asiático de los cítricos.

Este porcentaje de mortalidad no significa que los hongos entomopatógenos no tengan efecto de control en adultos de *D. citri*; sino que, se tiene que perfeccionar la estrategia para poder medir el efecto de mortalidad de adultos en campo.

6.3. Ninfas y adultos de *Diaphorina citri*.

Para conocer el efecto de los tratamientos tanto en ninfas como en adultos se realizó el análisis de varianza a los datos de la suma de ninfas + adultos con

micosis. Como se observa en los Cuadro E y K del Apéndice, si existió diferencia significativa entre los tratamientos ($P < 0.0001$).

Con la comparación múltiple de medias (Tukey) se determinó que el mejor tratamiento fue la cepa Pf21 (T3) con promedios por brote de 32.28 y 41.11 % en la primera y segunda evaluación, respectivamente; en segundo lugar se ubicó la cepa Pf17 (T2) con promedios de 15.78 y 34.87 %; la cepa Pf15 (T1) registró promedios de 9.63 y 28.92 % y por último la cepa Ma59 (T4) fue el peor tratamiento con 5.54 y 12.73 % estadísticamente igual al testigo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Porcentaje de adultos y ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera y segunda evaluación, y prueba de comparación múltiple de medias (Tukey).

Tratamiento	Primera evaluación (2012)		Segunda evaluación (2013)	
	Promedio de adultos y ninfas por brote	Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)	Promedio de adultos y ninfas por brote	Agrupación Tukey ($\alpha=0.05$)
3	32.28	A *	41.11	A *
2	15.78	B	34.87	A
1	9.63	C	28.92	A
4	5.54	C D	12.73	B
5	0.000	D	0.0000	B

* Medias seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Los porcentajes de mortalidad causados en ninfas y adultos de *Diaphorina citri*, que se muestran en la figura 13, son muy similares a los resultados reportados por Mellín *et al* (2011), en donde encontraron que la cepa Pf21 fue el mejor tratamiento en la mortalidad de ninfas en estudio realizado en plantaciones de limón mexicano en el Estado de Colima.

El porcentaje de mortalidad de la cepa Ma59 de *M. anisopliae* es muy bajo comparado con los resultados que obtuvieron Sánchez *et al.*, (2011), al evaluar aislamientos de *Metarhizium anisopliae* para el control de *D. citri* en huertos comerciales de naranja valencia en Martínez de la Torre, Veracruz en donde observaron una mortalidad del 50 % aplicando el hongo a una dosis de 1×10^8 , lo cual puede deberse a que la Humedad Relativa en la zona citrícola de Martínez de la Torre es mucho mayor que en la zona citrícola de Acapulco de Juárez; en el mismo estudio se observó un resultado similar al efecto de mortalidad que causó la cepa Pf21, ya que en sus tratamientos evaluaron un aislamiento de *Isaria fumosorosea* a una dosis de 1×10^7 y observaron una mortalidad del 50 %.

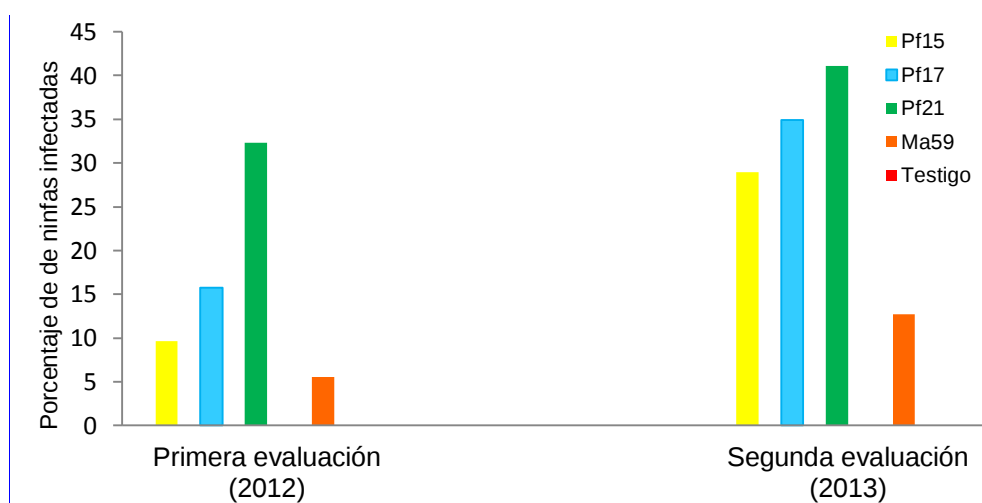


Figura 13. Porcentaje de mortalidad de las cepas de hongos entomopatógenos en el psilido asiático de los cítricos (ninfas + adultos).

En los 2 periodos evaluados, la aplicación de los hongos entomopatógenos afectaron de manera significativa especímenes de *D. citri* en estado de ninfa

principalmente, como se demuestra con el análisis de mortalidad asociado al desarrollo de micosis en los insectos observados; no en el mismo grado mortalidad como lo reportado bajo condiciones de laboratorio en pruebas realizadas por Arredondo *et al.* (2010) y por .Gandarilla *et al.* (2013).

Como se ilustra en la figuras 14 (A-O), el desarrollo de micosis y muerte de los insectos es la manifestación final de la enfermedad que causaron los hongos entomopatógenos en ninfas (Figura 14 A-I, L, N y O) y adultos (Figura 14 J, K y M) de *D. citri* después de pasar por las fases de adhesión de la espora en la cutícula del insecto, germinación, penetración y replicación, como lo indica Téllez *et al* (2009).

Las condiciones de temperatura y humedad relativa, así como las recomendaciones realizadas por Mellín *et al.* (2008) sobre el uso de bolsas de maya de organza permitieron observar y cuantificar el efecto de mortalidad de las cepas en *D. citri*, a diferencia de lo reportado por Hoy *et al.* (2008), en donde la baja Humedad Relativa y el no cubrir los brotes para aislar las poblaciones del efecto de los enemigos naturales, observaron pocos especímenes de ninfas y adultos muertos por efecto de *Isaria fumosorosea*, siendo que éstas mismas cepas mostraron altos porcentajes de mortalidad en condiciones de laboratorio Meyer *et al.* (2008).

En los predios de limón mexicano tratados con los hongos entomopatógenos, en los 2 ensayos se observaron diferentes depredadores generalistas (coccinélidos, arañas y crysoperlas), ninfas parasitadas (figuras 15 B-C) y adultos de *Diaphorina citri* afectados por hongos entomopatógenos (figura 15 D-F), micosis causada posiblemente por *Hirsutella* sp. ya que los síntomas son muy similares a los observados por Reyes *et al* (2010) y por González *et al* (S/f); como lo indica Hall (2008), que en donde está presente el psílido asiático sus poblaciones son afectadas de manera natural por agentes de control biológico.

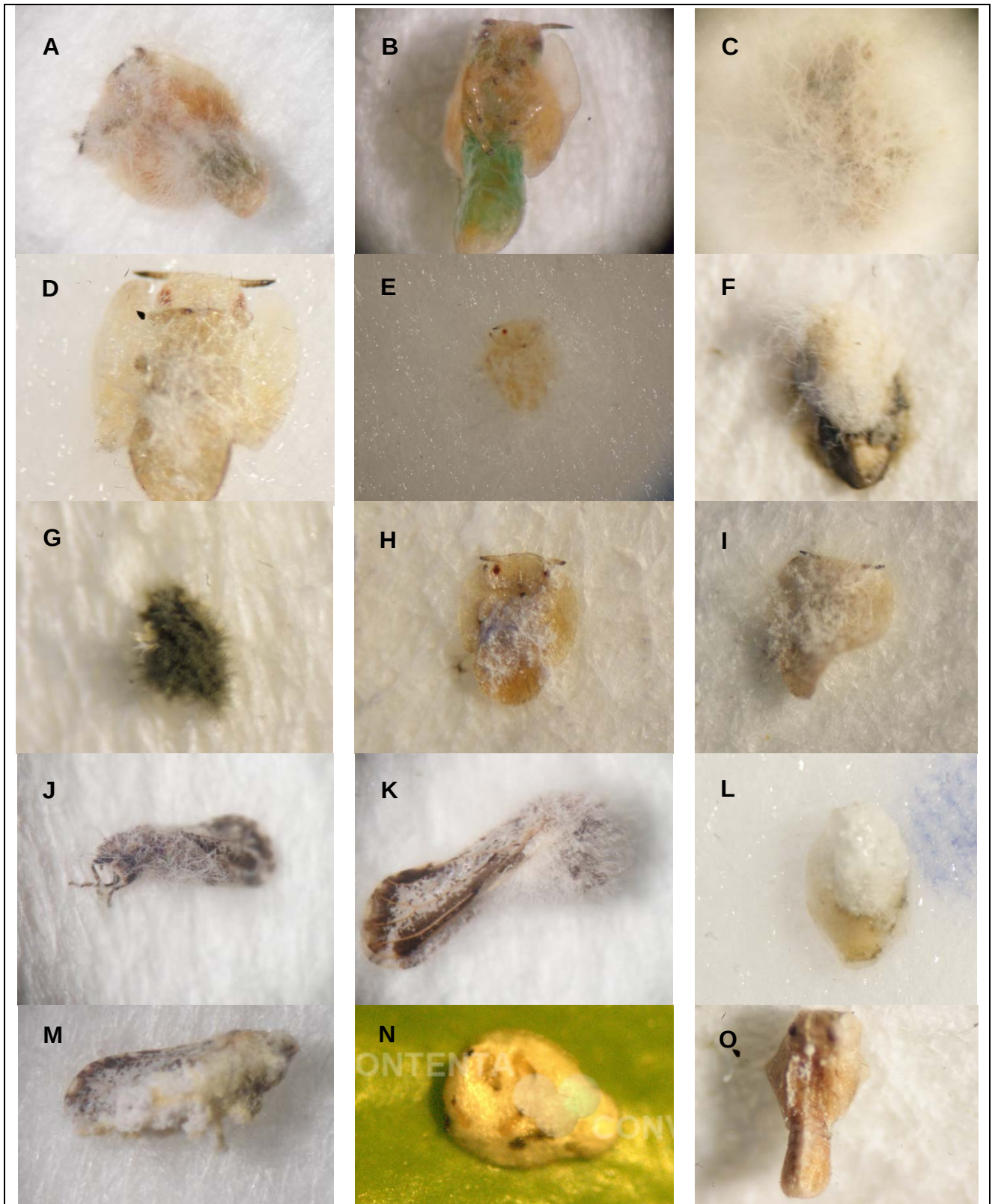


Figura 14. Ninfas y adultos de *Diaphorina citri* con desarrollo de micosis causado por los hongos entomopatógenos. *Isaria fumosorosea* (A-K), *Metarhizium anisopliae* (L-O).

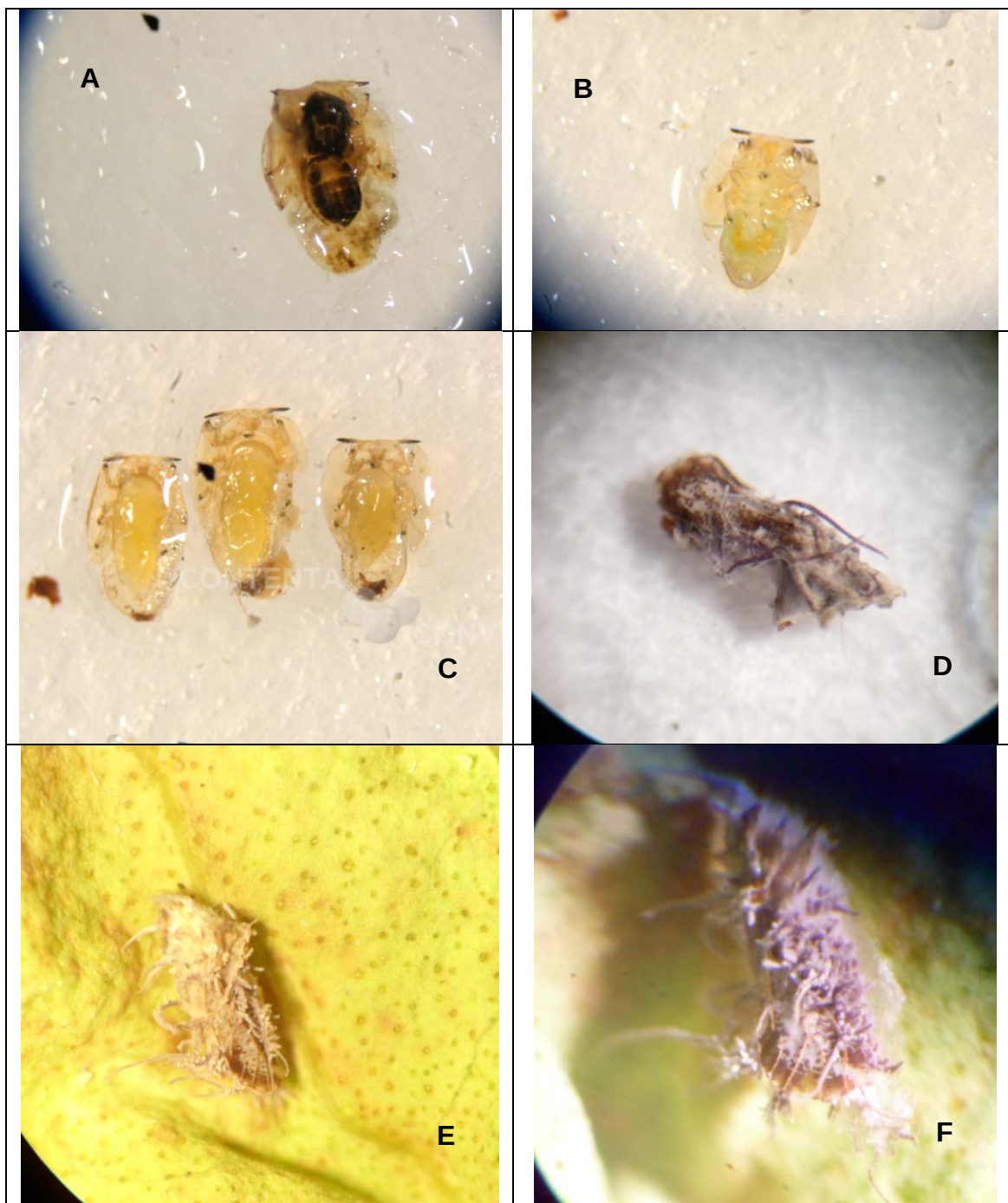


Figura 15. Ninfas y adultos de *Diaphorina citri* afectados por agentes de control biológico. (A-C) ninfas parasitadas, (D-F) Adultos micosados.

7. Conclusiones

Las cepas Pf21, Pf17 y Pf 15 de *Isaria fumosorosea* y la Ma59 de *Metarhizium anisopliae* tienen efecto de control en las poblaciones de *Diaphirna citri*, con porcentajes de mortalidad del 5.38% a 51.72% en ninfas y del 0.54% a 10.52 % en adultos.

En el control de ninfas, la cepa Pf21 de *Isaria fumosorosea* fue el mejor tratamiento en las 2 evaluaciones, con porcentajes de mortalidad del 51.72 % y 42.565 %, respectivamente.

En el control de adultos las cepas Pf15, Pf21 y Ma59 estadísticamente mostraron el mismo efecto de control con porcentajes de mortalidad de 10.52%, 2.18% y 7.38%, respectivamente.

El periodo de aplicación de los hongos entomopatógenos si influye en la eficiencia de control contra *D. citri*, por lo que se recomienda el uso de lectores de temperaturas y humedad relativa.

Se recomienda el uso de la cepa Pf21 en programas de manejo de *D citri* en huertos comerciales, huertos bajo sistemas de producción orgánica, huertos de traspatio y plantaciones abandonados para el área de Acapulco de Juárez.

8. Literatura consultada

Albert, S. E. and Núñez, C. A. 2004. Distribution of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota:Psyllidae) in the Caribbean an Basin. Florida Entomological Society. 87(3):401-402.

Almaguer, V. G. y Mamani, O. C. I. 2012. Manejo Integral de Cítricos en México. Pp. 186-187. A. Ed. Curti-Díaz, S. A., Loreda-Salazar, R. X., Soto-Estrada, A. (Ed.). Memoria: Congreso Mexicano de Investigación en Cítricos 2012. Veracruz. México, 10 - 12 de diciembre, 2012. Centro de Investigación Regional Golfo- Centro (CIRGOC), Campo Experimental Ixtacuaco. Memoria Científica. 196 p.

Arredondo, B. H.C; Sánchez, G. J.A. y Mellín R. M.A. 2010. Avances en el control biológico del Psílido Asiático de los Cítricos en México. VI Simposio Internacional de Citricultura. Tecomán Colima 4, 5 y 6 de noviembre del 2010. Pp. 121-132.

Bayer de México. 2014. Consulta realizada en línea en el sitio web: <http://www.bayer.com.mx/bayer/cropscience/bcsmexico.nsf/id/9678CB600E7105BFC12577FA0054AEA6> (consulta realizada el 30 abril 2014)

Bové, J. M., (2006). Huanglongbing: A destructive, newly-emerging century-old disease of citrus. Journal of plant pathology (2006), 88 (1), 7-37.

CESAVEGRO. 2014. Campañas fitosanitarias. Huanglongbing de los Cítricos. <http://www.cesavegro.org.mx/campanas/hlb/hlb.php>. 11 de Febrero de 2014.

Cortez, M. E. C.; Pérez, M. J.; López, A. I; Medina, M. H. M. y González, C. V. M. 2010. Population fluctuation of *Diaphorina citri* Kuwayama and host preference in citrus in the center of the state of Sinaloa. Primer Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. 2010. pp.33.

da Graça, V. 2008. Biology, history and world status of huanglongbing. I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus Liberibacter* spp) y el Psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*). Hermosillo, Sonora. México.

Díaz, Z. U. 2010. Estudio de evaluación de efectividad biológica de Actara ®, para controlar *Diaphorina* en el limón persa (*Citrus latifolia* Tan.). 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Monterrey, Nuevo León, México. Pp. 376-394.

Díaz, Z. U.; Cabrera, M. H.; Villanueva, J.J.A.; Murillo, C. F. D. y López, A. J. I. 2011. Selección de insecticidas y épocas de aplicación para el control del psílido asiático en limón persa en Veracruz. Folleto Técnico Núm. 6. Serie: Protección de Agroecosistemas. Colegio de Postgraduados Campus Veracruz, México.

Esquivel, C. F.; Valdovinos, P. G.; Mora, A. G.; Gómez, J. R.; Velázquez, M. J. J. J. y López, A. J. I. 2010. Análisis histológico y epidemiológico del limón mexicano y limón persa asociados a síntomas del HLB (Huanglongbing). 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Monterrey, Nuevo León, México. Pp. 98-103.

FAO. 2014. FAO: Estadísticas. <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/QC/S>. Fecha de consulta: 03 de Marzo del 2014.

Flores, V. R.; Robles, G. M. M.; Velázquez, M. J.J. y Manzanilla R. M. A. 2010. Situación actual del Huanglongbing (HLB) en el limón mexicano bajo las condiciones agroecológicas de Colima. VI Simposio Internacional de Citricultura. Tecomán Colima 4, 5 y 6 de noviembre del 2010. Pp. 1-20.

Fontes, P. A.A.; Fu-Castillo, A.A. y López, A. J.I., 2011. Eficiencia de productos orgánicos foliares para el control de ninfas y adultos de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae). 2° Simposio nacional sobre investigación

para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 281-285.

Gandarilla, P. F.L.; Galán, W. L.J.; López, A.J.I.; Rodríguez, G. R. and Quintero, Z. I. 2013. Optimization of Pathogenicity Tests for Selection of Native Isolates of Entomopathogenic Fungi Isolated from Citrusgrowing Areas of México on Adults of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Florida Entomologist, 96(1):187-195. 2013.

González, C. J.L.; Castellanos, S. I.E.; Fucikovsky, Z. L.J.; López, H. M.; Sánchez, R. G. y Elorza, M. P. (S/f). Dinámica de población y tasa de infección de *D. citri* al hongo *Hirsutella citriformis* en *Citrus sinensis* en Tuxpan, Veracruz, México. Universidad Veracruzana.

Grafton, C. E. E.; Godfrey, K. E.; Roger, M. E.; Childers, C. C. and Stansly, P. A. 2006. Asian Citrus Psyllid. Publication 8205. University de California. Division of Agriculture and Resource. <http://anrcatalog.ucdavis.edu>.

Hall, D. G. 2008. Biological control of *Diaphorina citri*. I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus Liberibacter spp*) y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*). Hermosillo, Sonora. México. Pp. 1-11.

Hernández F. L. M., Urias L. M. A., López A. J. I., Gómez J. R. y Bautista M. N. 2012. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae) en lima persa *Citrus latifolia* Tanaka. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol. 3 Núm. 3. Pp. 427-439.

Hernández, F. L. M., López A. J. I., Velázquez M. J. J., Urias L. M. A., Gómez J. R. y Robles B. A. 2013. Eficacia biológica de compuestos químicos aplicados al suelo y follaje contra *D. citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae) en *Citrus latifolia* Tanaka. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol. 4 Núm. 5. Pp. 687-700.

Hoy, M.A., R. Singh & M.E. Rogers. 2010. Evaluations of a novel isolate of *Isaria fumosorosea* for control of the asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Florida Entomologist. 93(1): 24-32.

INIFAP. 2006. Folleto No. 2: Biología y manejo integrado de antracnosis del limón mexicano *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle en el trópico seco de México. Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro-Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima. México.

Irey, M. S.; Gast, T. and Snively, J. 2008. Grove management at southern gardens citrus in the presence of Huanglongbing. I Taller Internacional sobre Huanglongbing de los cítricos (*Candidatus Liberibacter* spp) y el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*). Hermosillo, Sonora. México.

Lomeli, F. J.R.; Rodríguez, L. E.; Valdez, J.M. y Ortega, A. L.D. Genero de Coccinelidae asociados a *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) en México. 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 64-77.

López, S. J., M. P. 2012. Control químico del Psílido Asiático (*Diaphorina citri* Kuwayama) en el cultivo del limón mexicano (*Citrus aurantifolia*) en Apatzingán, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. México.

Macías, R. L. C., Santillan-Ortega C., Robles-Bermúdez A., Isiordia-Aquino N. Ortiz-Catón M. 2013. low environmental impact insecticides to control of *Diaphorina citri* (Hemiptera:psyllidae) on persian lemon in “La Fortuna”, Nayarit, México. Revista de Bio Ciencias. Vol. 2(3). Pp. 154-161.

Manzanilla, R. M.A.; Robles, G. M. M.; Velázquez, M. J. J.; Orozco, S. M. y Medina, U. V. M. 2010. Programa en el manejo del Huanglongbing en el limón mexicano para el Estado de Colima. VI Simposio Internacional de Citricultura. Tecomán Colima 4, 5 y 6 de noviembre del 2010. Pp. 94-120.

Martínez, C. J.L. (S/f). Ficha técnica *Diaphorina citri* Kuwayama, Psílido asiático de los cítricos. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria -Dirección General de Sanidad Vegetal.

Meller J. M. M. A. Hoy & D.G. Boucias. 2008. Isolation and characterization of an *Isaria fumosorosea* isolate infecting the Asian citrus psyllid in Florida. Journal of Invertebrate Pathology 99: 96-102.

Mellín, R. M.A; Hernández B. I.; Núñez, C. M.C. y Arredondo, B. H.C. 2011. Efectividad de hongos entomopatógenos en el control del Psílido de los Cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) en Colima. 2° Simposio nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 367-372.

Mellín, R. M. A.; Hernández, B. I. y Arredondo, B. H.C. (S/f). Metodología para evaluar hongos entomopatógenos contra el Psílido Asiático de los Cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae). Centro Nacional de Referencia de control Fitosanitaria, Subdirección de Control Biológico. SENASICA-DGSV.

Miranda, S. M.A. y López, A. J.I. 2010. Manejo del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en Michoacán. VI Symposium Internacional Citrícola. Tecomán Colima. México. Pp. 282.

Miranda, S. M.A. y López, A. J.I. 2010a. Fluctuación poblacional del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) y de sus enemigos naturales en Michoacán. 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 13-18.

Mora, A. G. (s/f). Ficha técnica del HLB Huanglongbing. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-Dirección General de Sanidad Vegetal. México.

Navarrete, B.; McAuslane, H.; Dyrup, M. and Peña, J. E. 2013. Ants (Hymenoptera:Formicidae) Associated with *Diaphorina citri* (Hemiptera:Liviidae) and their Tole in its Biological Control. Florida Entomological Society. 96(2):590-597.

Núñez, C. M. del C.; Mellín, R. M.A. y Arredondo, B. H.C. (S/f). Efecto de hongos entomopatógenos sobre la emergencia de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptea:Eulophidae) bajo condiciones controladas. Centro Nacional de Referencia, Dirección General de Sanidad Vegetal-SENASICA.

Pucheta, D. M.; Flores, M. A.; Rodríguez, N. S. y De la Torre, M. 2006. Mecanismos de acción de los hongos entomopatógenos. Interciencia, Vol. 31, número 12. Pp. 856-860. Asociación Interciencia, Venezuela.

Reyes, R. M.A., López, A. J.I. y Loera, G. J. 2010. Fluctuación del hongo entomopatógeno *Hirsutella citriformis* en poblaciones del Psílido Asiático de los Cítricos *Diaphorina citri*, en Río Bravo, Tamaulipas, México. 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Críticos y el Huanglongbing en México. 2010. pp.302-310.

Robles, G. M. M.; Velázquez, M. J.J.; Orozco, S. M.; Manzanilla, R. M.A.; Flores, V.R.; Arredondo, B. H.C.; Archila, M. A.B., Núñez, C. M.C.; Barba, R. M.; Reyes, M. J.G. y Rodríguez, A. J. I. 2010. Bioecología del Psílido Asiático de los Cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el limón mexicano en Colima. VI Simposio Internacional de Citricultura. Tecomán Colima 4, 5 y 6 de noviembre del 2010. Pp. 32-73.

Rodríguez, T. J. L. 2009. Control de *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) con insecticidas de diferente modo de acción en el cultivo de naranja en el Estado de Morelos. Tesis Maestría en Protección Vegetal. Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. México.

Ruíz, G. I. 2013. Evaluación de insecticidas para el control del Psílido Asiático de los Cítricos (*Diaphorina citri*) Kuwayama (Hemipter:Liviidae) en sus

diferentes estados biológicos, en Limón Persa. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Téxcoco, México.

SAF. 2004. Primera notificación del Psílido de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama), en el municipio de Arroyo seco, Querétaro, México. Sistema de Alerta Fitosanitaria de la NAPPO. <http://www.pestalert.org/espanol/oprDetail.cfm?oprID=384>

SAF. 2009. Primera detección de muestra de Psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*) positiva a Huanglongbing en el municipio de Tizimín, Estado de Yucatán, México. Sistema de Alerta Fitosanitaria de la NAPPO. <http://www.pestalert.org/espanol/oprDetail.cfm?oprID=384>.

Sánchez, G. J.A.; Zamora, C. A. y Arredondo, B. H.C. 2010. Producción masiva de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera:Eulophidae), parasitoide del Psílido Asiático de los Cítricos: una propuesta en desarrollo. 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 244-250.

Sánchez, L. B.M.; Ek M. J.N.; Casique, V. R.; Reyes, M. A.Y. y López, A. J.I. 2010. Bioensayos y actividad patogénica de hongos aislados de *Diaphorina citri* contra insectos seleccionados, en diferentes formulaciones. 1^{er} Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 276.

Sánchez, P. S.R.; Casique, V. R.; Sánchez, L. B.M.; Ek, M. J.N.; Hernández, G. C.; Curti, D. S.A.; Loredó, S. X.L. y López, A. J.I. 2011. Aplicación en campo de hongos entomopatógenos para el control de *Diaphorina citri* en Martínez de la Torre, Veracruz, México. 2^o Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Pp. 345-346.

SENASICA. 2014. Dirección General de Sanidad Vegetal. Comunicaciones, notificaciones y situación fitosanitaria del HLB y su vector. <http://www.senasica.gob.mx/?id=4608>. Consulta realizada 27 de Enero de 2014.

SENASICA. 2014a. Dirección General de Sanidad Vegetal. Informes y evaluaciones. Informes 2014. Marzo 2014 “Acciones contra el huanglongbing y su vector en México”. <http://www.senasica.gob.mx/?doc=26771>. Consulta realizada el 29 de abril de 2014.

SENASICA. s/f. Dirección General de Sanidad Vegetal. Protocolo de actuación para la detección del Huanglongbing.

SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. www.siap.gob.mx. (Consulta realizada el 25 de Febrero, 2014).

Syngenta. 2014. Consulta realizada en línea en el sitio web: <http://www.syngenta.com.mx/apatzingan-.aspx> (consulta realizada el 30 abril 2014)

Téllez, J. A.; Cruz, R. M.G.; Mercado, F. Y.; Asaff, T. A. y Arana, C. A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología* 30:73-80.

Torres, P. I.; López, A. J. I.; Aguirre, G. J. A.; Guevara, G. R.G.; Yañez, L. R.; Hernández, Z. M.I. and Quijano, C. J.A. 2013. Potential Distribution in Mexico of *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) Vector of Huanglongbing Pathogen. *Florida Entomological Society*. 96(1):36-47.

9. Apéndice

Cuadro A. Resultados del Análisis de Varianza de ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2012).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Ninfas	4	70218.85154	17554.71289	41.67	<0.0001
Repetición	4	1829.61777	457.40444	1.09	0.3648
Error	191	80456.5524	421.2385		
Total	199	152505.0217			

R-cuadrado Coef Var Raiz MSE PorNI Media
0.472433 105.0285 20.52410 19.54145

Cuadro B. Prueba de comparación múltiple de medias (Tukey) de ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2012).

Variable	Tratamientos	Media
Ninfas de <i>D. citri</i> por brote (con desarrollo de micelio)	3	51.721 ^a A
	2	28.564 B
	1	12.033 C
	4	5.389 C
	5	0.000 C
	LSD	12.639

^a Medias dentro de columna seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Cuadro C. Resultados del Análisis de Varianza de adultos de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2012).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Adultos	4	3786.09754	852.126213	3.61	0.0073
Repetición	4	377.592688	94.398172	0.04	0.8083
Error	191	45051.68905	235.87272		
Total	199	48837.78660			

R-cuadrado Coef Var Raiz MSE PorAd Media
0.077524 372.0797 15.35815 4.127650

Cuadro D. Prueba de comparación múltiple de medias (Tukey) de adultos de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2012).

Variable	Tratamientos	Media
Adultos de <i>D. citri</i> por brote (con desarrollo de micelio)	1	10.525 ^a A
	4	7.386 A B
	2	2.186 A B
	3	0.542 B
	5	0.000 B
	LSD	9.4578

^a Medias dentro de columna seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Cuadro E. Resultados del Análisis de Varianza de adultos y ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2012).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Ninfas + adultos	4	24598.36579	6149.59145	74.07	<0.0001
Repetición	4	453.00363	113.25091	1.36	0.2480
Error	191	15858.34359	83.02798		
Total	99	40909.71302			

R-cuadrado Coef Var Raiz MSE PorMic Media
0.612357 72.03508 9.111969 12.64935

Cuadro F. Prueba de comparación múltiple de medias (Tukey) de adultos y ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la primera evaluación (2012).

Variable	Tratamientos	Media
Adultos + ninfas de <i>D. citri</i> por brote (con desarrollo de micelio)	3	32.283 ^a A
	2	15.789 B
	1	9.630 C
	4	5.544 C D
	5	0.000 D
	LSD	5.6113

^a Medias dentro de columna seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Cuadro G. Resultados del Análisis de Varianza de ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la segunda evaluación (2013).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Ninfas	4	24020.22141	6005.05535	21.01	<0.0001
Repetición	4	1005.33992	251.33498	0.88	0.4796
Error	89	25433.40073	285.76855		
Total	97	50325.65880			

R-cuadrado Coef Var Raiz MSE PorNI Media
0.494624 69.06317 16.90469 24.47714

Cuadro H. Prueba de comparación múltiple de medias (Tukey) de ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la segunda evaluación (2013).

Variable	Tratamientos	Media
Ninfas de <i>D. citri</i> por brote (con desarrollo de micelio)	3	42.565 ^a A
	2	35.173 A
	1	30.914 A
	4	13.508 B
	5	0.0000 B
	LSD	19.58763

^a Medias dentro de columna seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Cuadro I. Resultados del Análisis de Varianza de adultos de *D. citri* con desarrollo de micosis en la segunda evaluación (2013).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Adultos	4	0	0	0	0
Repetición	4	0	0	0	0
Error	89	0	0		
Total	97	0			

R-cuadrado 0.000000 Coef Var 0 Raiz MSE 0 PorAd Media 0

Cuadro J. Prueba de comparación múltiple de medias (Tukey) de adultos de *D. citri* con desarrollo de micosis en la segunda evaluación (2013).

Variable	Tratamientos	Media
Adultos de <i>D. citri</i> por brote (con desarrollo de micelio)	1	0.00 ^a A
	2	0.00 A
	3	0.00 A
	4	0.00 A
	5	0.00 A
	LSD	0.00

^a Medias dentro de columna seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).

Cuadro K. Resultados del Análisis de Varianza de adultos y ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la segunda evaluación (2013).

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Adultos + ninfas	4	22699.43904	5674.85976	21.07	<0.0001
Repetición	4	926.36027	231.59007	0.86	0.4913
Error	89	23968.39987	269.30786		
Total	97	47488.72404			

R-cuadrado 0.495282 Coef Var 69.58158 Raiz MSE 16.41060 PorMic Media 23.58469

Cuadro L. Prueba de comparación múltiple de medias (Tukey) de adultos y ninfas de *D. citri* con desarrollo de micosis en la segunda evaluación (2013).

Variable	Tratamientos	Media
Adultos + ninfas de <i>D. citri</i> por brote (con desarrollo de micelio)	3	41.111 ^a A
	2	34.871 A
	1	28.929 A
	4	12.737 B
	5	0.000 B
	LSD	19.58763

^a Medias dentro de columna seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes ($\alpha=0.05$).