



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

**SUSCEPTIBILIDAD DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA:
LIVIIDAE) A INSECTICIDAS EN VERACRUZ, MÉXICO**

VÍCTOR HUGO GARCÍA MÉNDEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

ESPECIALISTA EN ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

La presente tesis titulada “Susceptibilidad de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liividae) a insecticidas en Veracruz, México” realizada por el alumno Víctor Hugo García Méndez que se llevó a cabo bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS ESPECIALISTA EN ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

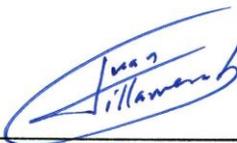
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA



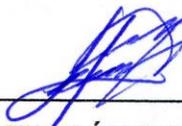
DRA. LAURA DELIA ORTEGA ARENAS

ASESOR



DR. JUAN ANTONIO VILLANUEVA JIMÉNEZ

ASESOR



DR. HUSSEIN SÁNCHEZ ARROYO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Septiembre 2013.

Esta tesis titulada **“SUSCEPTIBILIDAD DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: Liviidae) A INSECTICIDAS EN VERACRUZ, MÉXICO”**, se realizó bajo dirección de la **Dra. Laura Delia Ortega Arenas**, Profesora Investigadora del Colegio de Postgraduados, como parte del Megaproyecto **“MANEJO DE LA ENFERMEDAD HUANGLONGBING (HLB) MEDIANTE EL CONTROL DE LAS POBLACIONES DEL VECTOR *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE), EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS”**, Bajo la responsabilidad del **Dr. José Isabel López Arroyo** con el apoyo financiero **FONSEC-SAGARPA-CONACYT** con clave **2009-108591**.

SUSCEPTIBILIDAD DE *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: LIVIIDAE) A INSECTICIDAS EN VERACRUZ, MÉXICO

Víctor Hugo García Méndez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013

RESUMEN

El uso racional de insecticidas requiere una evaluación previa de la efectividad de los productos para evitar aplicaciones inefectivas o el desarrollo de resistencia. El Psílido Asiático de los Cítricos (PAC), *Diaphorina citri* es vector del Huanglongbing y requiere estrategias de manejo regional de la resistencia. El objetivo de la investigación fue definir las líneas base de manejo de la resistencia y determinar la susceptibilidad de *D. citri* a insecticidas convencionales de uso común en aéreas citrícolas de Cazones y Martínez de la Torre, Veracruz, México. Se evaluaron seis productos en grado técnico mediante aplicación tópica en el protórax de adultos y uno por evaluación sistémica. La mortalidad se registró 24 h después de aplicar los insecticidas y se determinaron las líneas de respuesta log dosis-probit, los valores de DL_{50} y la respuesta relativa para cada producto. La población de *D. citri* procedente de Cazones, resultó susceptible a los insecticidas evaluados; los datos de cada insecticida se proponen como líneas base de referencia para el manejo de la resistencia en México. La población de *D. citri* de Martínez de la Torre mostró resistencia alta a los insecticidas dimetoato y metomilo; tolerancia a malatión y lambda-cialotrina y susceptibilidad a abamectina, endosulfán e imidacloprid.

**SUSCEPTIBILITY *Diaphorina citri* KUWAYAMA (HEMIPTERA: Liviidae) TO
INSECTICIDES IN VERACRUZ, MEXICO**

**Victor Hugo García Méndez, MSc.
Colegio de Postgraduados, 2013**

ABSTRACT

The rational use of insecticides requires a prior evaluation of the effectiveness of the products to avoid ineffective applications or the development of resistance. The Asian citrus psyllid (PAC), *Diaphorina citri* is the vector of Huanglongbing and regional management strategies require the resistance. The objective of the research was to define baselines resistance management and to determine the susceptibility of *D. citri* to conventional insecticides commonly used in citrus air of Dogfish and Martinez de la Torre, Veracruz, Mexico. were evaluated six products in technical grade by topical application on the prothorax of adults and one for systemic evaluation. Mortality was recorded 24 h after applying insecticides and determined response lines log-probit dose, LD₅₀ values and the relative response for each product.'s Population *D. citri* from Dogfish, was susceptible to insecticides evaluated, the data for each insecticide are proposed as reference baselines for resistance management in Mexico.'s population *D. citri* Martinez de la Torre showed high resistance to insecticides dimethoate and methomyl, malathion tolerance and lambda-cyhalothrin and susceptibility to abamectin, endosulfan and imidacloprid.

AGRADECIMIENTOS

Al **Pueblo de México** que a través del **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACyT) me dio la manutención durante los dos años de la maestría.

Al **Colegio de Postgraduados Campus Montecillo** por aceptarme entre sus estudiantes y permitirme crecer como persona y como profesionalista.

A la **Dra. Laura Delia Ortega Arenas** por transmitirme sus conocimientos y experiencias, por enseñarme que la ciencia tiene un factor muy importante: la calidez humana.

A mis asesores y sinodal **Dr. Juan A. Villanueva Jiménez, Dr. Hussein Sánchez Arroyo y al Dr. Héctor González Hernández.**

A mis compañeros de laboratorio **Edgar Eduardo Mendoza García, Florinda García Pérez, Jesús Alberto Ramírez y Valeria I. Cuellar Sánchez,** por su valiosa compañía.

Al **Sr. Magdaleno Caballero Espinoza** por su apoyo en la cría de los invernaderos.

A los **Citricultores** del Ejido la Palma en Martínez de la Torre, Veracruz por permitirme integrarme a su comunidad y su apoyo desinteresado para completar el trabajo de campo de la investigación.

DEDICATORIA

A mis padres:

Sra. María Vicheer Méndez Ayala

Sr. José L. García Martínez

A mis hermanos:

José Ulises García Méndez

Rosa Isabel García Méndez

Norma Angélica García Méndez

A mis ahijados:

Issac Alejandro García Ríos

Ulises Gabriel García Ríos

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE CUADROS	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	2
3. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1 Impacto Económico del HLB- Diaphorina citri en México.....	3
3.2 Historial de Aplicación Química contra D. citri	5
3.3 El Concepto de Resistencia	10
3.3.1 Factores genéticos.....	11
3.3.2 Factores biológico/ecológicos	12
3.3.3 Factores operacionales	14
3.4 Mecanismos de Resistencia	15
3.5 Detección y Medición de la Resistencia en Psiloides	16
3.5.1 Aplicación tópica	17
3.5.2 Sistémico	17
3.5.3 Residual por inmersión de hoja.....	18
3.6 Estudios de Resistencia en Diaphorina citri	19
4. MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1 Material Biológico.....	20
4.2 Insecticidas	22
4.3 Bioensayos	22
4.4 Análisis estadístico	24
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
6. CONCLUSIONES	32
7. LITERATURA CITADA	33

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Insecticidas, grupo toxicológico y dosis recomendados para el control de <i>D. citri</i> en México.....	9
2. Toxicidad de insecticidas en adultos de <i>Diaphorina citri</i> provenientes de una población susceptible de Cazonas, Veracruz, México y otra de la región citrícola de Martínez de la Torre, Veracruz, México.....	27

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad Huanglongbing (HLB) es considerada la más destructiva de los cítricos en el mundo y la que amenaza la sobrevivencia de los cítricos en México. *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), el Psílido Asiático de los Cítricos (PAC), es el vector primario del HLB, por lo que su control es vital para el manejo de la enfermedad (Halbert y Manjunath, 2004; SENASICA, 2012).

El control químico del vector, junto con la producción de plantas certificadas bajo invernadero y la eliminación de árboles infectados, son las tácticas que están siendo empleadas para reducir la dispersión del HLB en los huertos citrícolas (Childers *et al.* 2002, Qureshi y Stansly 2007, SENASICA, 2012). Sin embargo, la práctica común ha sido el uso de insecticidas mediante aplicaciones múltiples por temporada (Boina *et al.*, 2009; SENASICA, 2012).

En apoyo a la Campaña Nacional contra el HLB y su vector, en México se definió una lista de 30 productos mediante pruebas efectividad, seleccionados por causar al menos 85% de mortalidad en poblaciones de PAC en diferentes zonas citrícolas (Cortez-Mondaca *et al.* 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011; Robles-González *et al.*, 2011). Algunos estudios han planteado estrategias para evitar o retrasar el desarrollo de la resistencia en *D. citri* (Villanueva-Jiménez *et al.*, 2010), sin embargo, ninguno lo ha hecho con base al monitoreo de la resistencia en poblaciones locales.

En otros países se ha monitoreado por cuatro años consecutivos la susceptibilidad a insecticidas en *D. citri* y no se ha detectado resistencia, sin embargo, los valores de baja susceptibilidad que se han observado se consideran alarmantes (Tiwari *et al.*,

2013). Se han reconocido poblaciones tolerantes a imidacloprid (35 X), clorpirifos (17.9 X) y thiamethoxam (15 X) por Tiwari *et al.* (2011), quienes posteriormente descubrieron que las enzimas glutatión transferasa (GTS) y Citocromo P₄₅₀ oxidasas fueron las responsables de conferir dicha resistencia (Tiwari *et al.*, 2012).

2. OBJETIVOS

Con las prácticas comunes de uso de insecticidas para el control de *D. citri*, en México, se espera que la resistencia al agente seleccionador se incremente a grados difícilmente manejables (Ortega, 1998; Villanueva-Jiménez *et al.*, 2010). Esta situación es preocupante debido que el desarrollo de productos con modos de acción diferente a los actuales no ha sido paralelo a la demanda, y cada vez son menos los productos efectivos.

Por lo anterior y con el fin de generar bases para la implementación de un programa de manejo de la resistencia, se plantearon como objetivos:

- Determinar las líneas base para el manejo de la resistencia a insecticidas en *D. citri*
- Evaluar la susceptibilidad de poblaciones de *D. citri* procedentes de la región citrícola de Martínez de la Torre, Veracruz, México, a insecticidas convencionales recomendados para su control.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Impacto Económico del HLB- *Diaphorina citri* en México

En julio de 2009 se detectaron en la península de Yucatán (SENASICA, 2012) los primeros brotes de la enfermedad Huanglongbing (HLB, también conocida como Dragón Amarillo, Greening o enverdecimiento de los cítricos), la cual causa severas pérdidas a las huertas infectadas de naranja, limón, toronja y mandarina. Los árboles pueden morir en un periodo de 3 a 8 años, requiriéndose medidas de prevención y control inmediatas contra la enfermedad y su vector (Halbert y Manjunath, 2004). El HLB se considera la enfermedad más devastadora para los cítricos en el mundo, muy superior a la “Tristeza de los cítricos” (Halbert y Manjunath, 2004), no existiendo a la fecha un método único de control para esta enfermedad. La producción de plantas certificadas bajo invernadero, la eliminación de árboles infectados, y el control del vector -básicamente mediante aplicación frecuente de insecticidas- son las tácticas que están siendo empleadas para reducir la dispersión del HLB en los huertos citrícolas (Childers *et al.*, 2002; Qureshi y Stansly, 2007; SENASICA, 2012). De acuerdo con Salcedo *et al.* (2010), y Sparks (2013), una plantación de cítricos en la que se identifique al HLB en un 5% de infección, ésta puede avanzar a 20, 40 y 80% en un periodo de cuatro años. Solo en Florida (EUA) su diseminación ha puesto en riesgo los 9.3 billones de dólares que representan la industria de ese estado y los 76,000 empleos dependientes de ella y de las empresas relacionadas.

El HLB es ocasionado por la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., la cual es transmitida por insectos vectores; las variantes asiática y americana son transmitidas y diseminadas por el PAC, el cual se encuentra ampliamente distribuido en México. Hasta el año 2004 el HLB se consideraba restringido a los continentes asiático y africano, en donde había sido identificado desde finales del siglo XIX y principios del XX; sin embargo, en febrero de ese año se detectó en Brasil (Sao Paulo), en 2005 en Estados Unidos (Miami y Florida), en 2007 en Cuba (INCA Rural/ITESM, 2007), en 2008 en la República Dominicana, y en 2009 en Belice y México. En territorio nacional, se detectó en los municipios de Tizimin, Río Lagartos y Mococho de Yucatán, y Lázaro Cárdenas de Quintana Roo (Trujillo, 2009) en Julio-Agosto de 2009; meses después en los estados de Campeche, Jalisco, Nayarit y Colima.

A diferencia del HLB, las poblaciones del psílido se encuentran ampliamente distribuidas en el mundo. Se tienen registros de su presencia en el sur de China, Taiwan, India y Arabia Saudita (da Graca, 1991). En América está firmemente establecido en Florida (EUA) (Halbert y Manjunath, 2004), Venezuela (Cermeli *et al.*, 2000), Argentina (Étienne *et al.*, 1998), Brasil (da Graca, 1991) y Cuba (Alemán *et al.*, 2007). En México se reportó oficialmente la presencia de *D. citri* en el estado de Yucatán en 2002 y actualmente se encuentra en todas las regiones citrícolas del país (DGSV, 2007; Trujillo *et al.*, 2010; Hernández *et al.*, 2010).

La presencia del vector y la bacteria como una combinación destructiva, pone en grave riesgo la cadena citrícola mexicana (Salcedo *et al.*, 2010), porque de ella dependen 69 mil productores y 154 mil empleos directos (SAGARPA 2009). También están en riesgo 549 mil ha sembradas de cítricos, alrededor de 60 viveros certificados y

en trámite de certificación, 138 empacadoras, 110 enceradoras, 22 plantas jugueras, y 5 gajeras (SENASICA, 2012). El cultivo de cítricos absorbe el 40% de la superficie nacional sembrada de frutales y se presenta de manera representativa en 23 estados de la República Mexicana, aunque en seis de ellos se concentra el 75 % de la superficie cultivada, siendo Veracruz el mayor productor al aportar más del 40% (SIAP, 2008; Salcedo *et al.*, 2010).

De acuerdo con Salcedo *et al.* (2010), el escenario epidémico del HLB en México puede variar en función de varios factores, destacando el clima y la estructura de hospederos citrícolas en relación con la susceptibilidad al patógeno y la superficie sembrada. Con base en dicho estudio, Veracruz, Colima y Michoacán se consideran las entidades de alto riesgo y, por lo mismo, de significativo impacto comercial. Mientras que la Península de Yucatán y la vertiente del Pacífico son consideradas como regiones de moderado riesgo. Sin embargo, los eventos de 2011 mostraron que la Costa del Pacífico se ha vuelto de alto riesgo debido a la alta susceptibilidad del limón mexicano al HLB y al PAC.

3.2 Historial de Aplicación Química contra *D. citri*

El historial de aplicación química contra *D. citri* muestra que se han utilizado insecticidas pertenecientes a los principales grupos químicos (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides y neonicotenoïdes), tan pronto como han estado disponibles en el mercado y en la medida en que se han intensificado los problemas del psílido y la enfermedad (Tiwari *et a.*, 2011).

El control del PAC, es más importante en las áreas donde se tiene detectada la enfermedad. En general, el daño del insecto *per se* no es muy importante en árboles en producción, pero puede retardar el desarrollo en árboles jóvenes (Bové, 2006). Además, al mantener la población de una región a niveles mínimos, es más probable que el HLB tenga menor riesgo de dispersión. Los insectos adultos se pueden movilizar a través de las huertas por sus vuelos y los vientos que se presentan en el sistema de producción, es por ello importante establecer un esfuerzo coordinado a nivel regional para reducir sus poblaciones en un período corto de tiempo (Boina *et al.*, 2009).

Antes de que se considerara a *D. citri* un insecto vector de importancia agrícola, era escasa la información sobre su control con plaguicidas, el manejo del insecto se basaba en el uso de organofosforados (Kahn *et al.*, 1982; Bhagabati y Nariani, 1983; Hunag *et al.*, 1987; Batra *et al.*, 1990), como el dimetoato (Khangura y Singh, 1984), aceites hortícolas y otros derivados de fuentes naturales (Rae *et al.*, 1997).

Una vez que se detectó el HLB en Brasil en 2004 (Texeira *et al.*, 2005), las estrategias por evitar la diseminación de la enfermedad se han basado en el control de su vector con insecticidas de diferentes clases y modos de acción, que incluyen piretroides, organofosforados, carbamatos, neonicotinoides, reguladores del crecimiento (IRG), aceites hortícolas, inhibidores de la síntesis de lípidos y microbiales (Rogers y Stansly, 2008; Sétamou *et al.*, 2008; Srinivasan *et al.*, 2008).

En un primer intento por establecer las bases para el manejo de *D. citri* en América, Childers y Rogers (2005) indicaron un control alto de ninfas del PAC por 19 días con imidacloprid y aldicarb; en el caso de adultos la aplicación foliar de insecticidas

organofosforados fue más efectiva. Posteriormente, Qureshi y Stansly (2008) mencionan que a una dosis de 5.6 kg ha⁻¹ con neonicotinoides fue posible un buen control de adultos de PAC sin afectar directamente a los enemigos naturales, además mencionan que thiamethoxam e imidacloprid fueron capaces de mantener un control por tres meses, sin embargo, se requieren aplicar dosis de 1.13 kg ha⁻¹ de este último, aunque la planta tarda más en tomarlo del sustrato (Qureshi y Satansly, 2009).

También se han evaluado IRGs; al respecto Boina *et al.* (2010) y Tiwari *et al.* (2012) comentan que el pyriproxifem (64 µg mL⁻¹), buprofizen (30-240 µg mL⁻¹) y diflubenzuron (23-184 µg mL⁻¹) pueden utilizarse dentro del Manejo Integrado de *D. citri*, debido a que estos inhiben la eclosión de los huevos y suprimen la emergencia de adultos.

En general, varios insecticidas sintéticos se han probado contra el PAC, entre los cuales se mencionan endrín, diazinón, paratión, malatión, metildemetón, tiometón, DDT, dimetoato, fosfamidón, monocrotofós, oxidemetón-metil, fosalone, quinalfós y fosmet (Kahn *et al.*, 1982; Bhagabati y Nariani, 1983; Batra *et al.*, 1990). Sin embargo, generalmente se acepta que los aceites de petróleo son más efectivos contra insectos pequeños e inmóviles, los cuales quedan cubiertos por una fina película de aceite y por tanto mueren (Rae *et al.*, 1997). Se ha observado que los huevos y las ninfas del PAC presentes en los brotes, sufren significativa mortalidad cuando se aplica este tipo de productos, aunque la susceptibilidad a los aceites difiere entre los estados de la plaga; los instares jóvenes más susceptibles, mientras que los huevos son más tolerantes. Cuando se asperjan árboles no infestados por el psílido, se observan bajos niveles poblacionales, lo cual puede deberse a la inhabilitación de los sitios de oviposición. Los

aceites de petróleo han demostrado un efectivo control de las ninfas del psílido en condiciones de campo y para obtener una mejor protección del cultivo se recomienda su aplicación en intervalos menores de nueve días (Rae *et al.*, 1997).

El uso de los aceites tiene una serie de ventajas con respecto a los plaguicidas convencionales, debido a que son menos agresivos a los enemigos naturales, los insectos no desarrollan resistencia, no resultan tóxicos a los vertebrados y se degradan fácilmente en el ambiente (Beattie, 1993), por lo que su uso será más sostenible a largo plazo (Rae *et al.*, 1997).

Cortez-Mondaca *et al.* (2010) y Robles-González (2011) resumen en un folleto técnico los estudios de efectividad biológica realizados en algunas zonas citrícolas de México e indican que a dosis bajas de acefato (0.15 L ha^{-1}) es posible causar 85% de mortalidad en poblaciones incipientes de *D. citri*, los mismos resultados se obtuvieron con bifentrina a una dosis de 0.4 L ha^{-1} . Imidacloprid resultó ser efectivo aplicado en follaje y suelo a dosis de 0.3 y 0.4 L ha^{-1} , respectivamente. Estos autores resaltan que los piretroides y los organofosforados sólo se recomiendan usar una vez al año y a las dosis recomendadas, debido al alto riesgo de seleccionar insectos resistentes.

Cuadro 1. Insecticidas, grupo toxicológico y dosis recomendados para el control de *D. citri* en México.

Insecticida	Grupo toxicológico	Dosis recomendada L ha ⁻¹
acefato	FA-OM	0.15 L
azadiractina	I-BOT	2.0 L
bientrina	PIR-II	0.4 L
clorpirifós	FH-SE	1.0 L
dimetoato	FA-SM	1.0 L
dinotefurán	NEONIC	0.5 L
endosulfán	OC-Cd	1.0 L
fenpropatrín	PIR-II	0.5 L
fosmet	FH-OM	1.0 L
imidacloprid	NEONIC	0.3 L
lambdacialotrina	PIR-II	0.4 L
malatión	OP-Cx	1.0 L
metamidofós	FH-SM	1.25 L
monocrotofós	FA-OM	1.5 L
ometoato	FA-OM	1.0 L
spinetoram	Ácido tetrónico	0.2 L
spirotramat	I-MICR	0.2 L
thiacloprid	NEONIC	0.3 L
thiametoxam	NEONIC	0.5 L

Fuente: Folletos técnicos para el control de *D. citri* del INIFAP (2010, 2011)

3.3 El Concepto de Resistencia

El Comité de Acción contra la Resistencia a Insecticidas (IRAC) define a la resistencia como “un cambio heredable en la sensibilidad de una población plaga, que se refleja en repetidos fallos de eficacia del producto al ser usado de acuerdo con las recomendaciones de la etiqueta para esa plaga” (IRAC, 2009). Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez (1994) lo conceptualizan como “la habilidad complementaria y hereditaria propia de una población, que capacita fisiológica y etológicamente, para bloquear la acción tóxica de un insecticida por medio de mecanismos metabólicos y no metabólicos, y en consecuencia, sobrevivir a la exposición de dosis que para otros sería letal”.

Los cambios fisiológicos son consecuencia de cambios genéticos, por tal motivo las alteraciones cuantitativas y cualitativas ocurren a nivel individual, pero se hacen aparentes en toda una población cuando varias generaciones han pasado por una presión de selección y la proporción de individuos resistentes es suficientemente alta para reflejarse en un fallo en el control (Devonshire, 1990).

En teoría, todos los individuos tienen la capacidad a desarrollar resistencia a cualquier insecticida, el fenómeno no evoluciona a la misma velocidad en todos los organismos, aún si se someten a una presión de selección idéntica. De manera general, se asume que la resistencia se desarrollaría de forma rápida en especies con alta fecundidad, tiempo generacional corto y exposición prolongada a insecticidas (Georghiou y Taylor, 1977).

Aunque los factores genéticos, biológicos y ecológicos de la plaga tienen un gran peso en el fenómeno, las operaciones de control que se lleven a cabo para controlar a las poblaciones también influyen directamente en el desarrollo de la resistencia.

3.3.1 Factores genéticos

La resistencia es un fenómeno hereditario que se transmite de generación en generación. Una vez que los alelos que confieren resistencia están presentes en la población, la frecuencia a la que se encuentran puede ser un factor determinante; además, la presión de selección y la proporción de inmigración pueden imponer un equilibrio inestable (Haldane, 1930).

En una población con un alelo resistente, R, pueden existir individuos homocigotos RR, si la población es muy grande y aun así se encuentran esporádicamente dentro de la misma. Antes de aplicar cualquier insecticida, los alelos de resistencia son desventajosos para los individuos que los poseen, por lo que esta condición de resistencia se considera recesiva (Taylor y Georghiou, 1979). Por tal motivo, la frecuencia de individuos resistentes es substancialmente baja (10^{-6} a 10^{-3}), en comparación con los individuos susceptibles, SS, y los heterocigotos, RS (Whitten y McKenzie, 1982; Roush y McKenzie, 1987).

La frecuencia de genes de resistencia y la dominancia de los mismos pueden incrementar conforme la población se expone a un insecticida y a la dosis aplicada. A medida que los individuos SS se eliminan bajo una presión de selección alta y continua, el gen puede fijarse en la población (Ortega-Arenas *et al.*, 2008), al integrar los alelos resistentes dentro del genoma (Dobzhansky, 1970). La integración del alelo, en muchos

casos es desventajosa en un inicio (Ferrari y Georghiou, 1981), pero la selección consecutiva puede mejorar la capacidad biótica a través de la coadaptación del genoma resistente, conllevando así a una resistencia más estable (Roush y Tabashnik, 1990).

La resistencia puede ser recesiva si se realiza la aplicación de un insecticida a una dosis muy alta; como resultado, todos los individuos SS y los RS serán eliminados. Sólo unos cuantos RR sobrevivirán (Taylor y Georghiou, 1979). El tamaño de la población será muy pequeño y no se podrá mantener un crecimiento positivo, quizás por la incapacidad de encontrar pareja (Omer *et al.*, 1993). Además, puede ocurrir una inmigración de un grupo de individuos susceptibles; entonces los pocos RR copularán con los inmigrantes SS y la descendencia de la siguiente generación estará conformada principalmente por individuos SS y RS. Estos se pueden eliminar en la siguiente aplicación de insecticidas, manteniendo así la población bajo control (Taylor y Georghiou, 1979).

3.3.2 Factores biológico/ecológicos

El potencial biológico y el comportamiento de la plaga en cuestión pueden tener un efecto sustancial en el desarrollo de la resistencia (Georghiou y Taylor, 1986).

La velocidad en que son seleccionados los individuos resistentes es más alta cuando las poblaciones tienen un potencial reproductivo alto (toleran una presión de selección más intensa) y cuando presentan voltinismo, es decir, cuando se presentan varias generaciones por año (Georghiou, 1980; Tabashnik, 1990).

Respecto al comportamiento, una población que no migra o se encuentra aislada adquiere más rápidamente resistencia; también lo hace si tiene hábitos polífagos y si se encuentra directamente expuesta al tóxico aplicado por no tener refugios (Georghiou y Taylor, 1976; Georghiou y Taylor, 1977; Georghiou y Taylor, 1986).

Por lo anterior, teóricamente, el riesgo de que *D. citri* desarrolle resistencia en un corto plazo es alto. Cada hembra es capaz de depositar en promedio 800 huevos (Mead, 1977), apenas tres días después de haber llegado a su estado adulto (Wenninger y Hall, 2007). Su ciclo biológico puede concretarse en corto tiempo (15 días a 28°C) el crecimiento poblacional es alto y en consecuencia pueden soportar una presión de selección con insecticidas más intensa (Tabashnik, 1990); Liu y Tsai, 2000).

La diversidad de plantas de la familia Rutaceae de que el PAC dispone para su reproducción, alimentación y refugio (Yang *et al.*, 2006), aunado a su producción continua durante todo el año, también contribuyen para que esta plaga sea difícil de manejar en un agroecosistema (Bigornia y Obana, 1974; Halbert y Manjunath, 2004).

Dado que la reproducción del PAC es dependiente de la disponibilidad de brotes jóvenes pequeños u hojas tiernas recién expandidas, las aplicaciones son dirigidas a los brotes para abatir al máximo las poblaciones del insecto (Childers y Rogers, 2005; Ortega *et al.*, 2013).

3.3.3 Factores operacionales

Los factores operacionales de la resistencia son los relacionados con el plaguicida y están bajo el control humano. Los más obvios son aquellos que tienen que ver con el tiempo, la dosis y la formulación de los plaguicidas que se usen, su residualidad y la proporción de la población tratada (Georghiou y Taylor, 1986)

De acuerdo al tiempo de aplicación, la resistencia muestra una correlación positiva con el número de generaciones de la plaga sujetas a presión de selección, tiene que haber pocos sobrevivientes RR después de la aplicación inicial, y se debe mantener al alelo R debajo de cierto nivel que provoque una capacidad biótica reducida (Georghiou, 1972). Tiwari *et al.* (2011) mencionan que desde que se reportó la presencia de *D. citri* en huertos de cítricos de algunos condados de Florida (E.U.A) en junio de 1998, se ha realizado un manejo regional constante con insecticidas para su control basado en el uso de organofosforados. Ellos argumentan que esta presión de selección ha dado como resultado una disminución en la susceptibilidad a insecticidas de grupos toxicológicos relacionados, ya que en los condados del norte donde no se realiza una aplicación similar, se ha mantenido una susceptibilidad constante a insecticidas.

La clase del insecticida y el mecanismo de resistencia involucrado son factores importantes en el desarrollo de la resistencia. Cuando una población es sometida a presión de selección con un plaguicida, adquiere resistencia a él y a otros insecticidas relacionados toxicológicamente que no han sido aplicados (resistencia cruzada). Con la aplicación de otro insecticida toxicológicamente diferente, la susceptibilidad puede

regresar a un nivel cercano al original (resistencia cruzada negativa) (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994).

Tiwari *et al.* (2011) anotan que durante mucho tiempo, algunos citricultores realizaron una incorrecta rotación de insecticidas, ya que utilizaban sistemáticamente el mismo producto por desconocer que, a pesar de tener diferente nombre comercial, el ingrediente activo aplicado era el mismo. Esta situación intensificó la selección con productos del mismo grupo toxicológico. Como reemplazo para los organofosforados, en tan sólo dos años de uso de spinosad, Cheque si es correcto que se escriba así o spinosad dejó de ser efectivo debido al posible desarrollo de resistencia cruzada entre los dos grupos toxicológicos.

3.4 Mecanismos de Resistencia

Se han clasificado tres tipos de resistencia: por comportamiento, morfológica y fisiológica (Georghiou, 1965). Cuando es por comportamiento, se refiere a patrones etológicos de algunos individuos dentro de la población que les permiten evitar el contacto con alguna sustancia tóxica, ya sea por la capacidad de detectar el insecticida o por la preferencia a descansar en áreas no tratadas (Carrillo, 1984). La morfológica se refiere a la existencia de alguna característica estructural que permite que algunos individuos no sean seleccionados (Metcalf, 1955), como puede ser una menor área de exposición al tóxico (Carrillo, 1984). La fisiológica es el tipo de resistencia más importante y se adquiere por la adición de un mecanismo de protección o por la insensibilidad en el sitio de acción. Para fines de manejo los mecanismos de resistencia se separan en metabólicos y no metabólicos (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez,

1994), para ambos casos los insectos desarrollan resistencia a la molécula que causa directamente la toxicidad en la población.

3.5 Detección y Medición de la Resistencia en Psiloideos

Los bioensayos son pruebas de susceptibilidad a insecticidas utilizados para la detección de la resistencia. Se basan en pruebas de dosis-mortalidad, que usualmente se desarrollan en laboratorio y son la base en programas de detección continua de resistencia en algunas plagas (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994)

Existe una gran diversidad de tipos de bioensayos; la elección del correcto depende del insecto al que vaya dirigido, el insecticida a evaluar y el objetivo del mismo. Con este tipo de experimentos se pueden detectar diferencias en susceptibilidad entre una colonia resistente y una susceptible, mediante la relación de los valores de DL_{50} o CL_{50} llamada proporción de resistencia (PR). También permite saber cuántas veces es necesario aumentar la dosis para lograr la mortalidad deseada (50 ó 90 %), con respecto a la línea base (valores de susceptibilidad de la población susceptible de laboratorio) (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994).

A su vez permiten detectar la homogeneidad genética de la población en su respuesta al tóxico. Al realizar el procedimiento probit, con los valores de susceptibilidad se obtienen los valores de la recta de regresión: entre mayor es la pendiente, la colonia es genéticamente más homogénea, es decir, la población posee los mismos genes de resistencia y están aproximadamente en las mismas proporciones entre los individuos (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994).

Para *D. citri* y otros psiloideos, se han realizado bioensayos tópicos (Tiwari *et al.*, 2011), sistémicos (Boina *et al.*, 2009), y de aplicación residual por inmersión de hoja (van de Bann, 1989).

3.5.1 Aplicación tópica

La aplicación tópica consiste en la deposición directa de una cantidad conocida de insecticida diluida en una cantidad conocida de solvente, sobre alguna parte del cuerpo del insecto. En este bioensayo se utiliza una jeringa para cromatografía de 10 μL , para asegurar que en cada disparo se apliquen 0.2 μL de la solución en el pronoto del insecto. El solvente utilizado en los bioensayos de este tipo es la acetona grado industrial, ya que es un buen solvente, tiene una toxicidad muy baja y una alta volatilidad. Para dosis menores a 0.1 μL se recomienda el uso de metil-etil cetona (Needham y Devonshire, 1973).

Como contenedor de insectos, se utilizan cajas Petri con una cama de agar-agar al 1.5%, que mantienen turgentes las hojas de la planta hospedera con el envés expuesto. A las 24 h es medida la mortalidad del experimento (Tiwari *et al.*, 2011).

Los insecticidas a evaluar deben ser productos grado técnico, ya que son los únicos que pueden ser disueltos con acetona o metil-etil cetona.

3.5.2 Sistémico

El bioensayo consiste en desarrollar plántulas de naranja en invernadero y sin exposición a plaguicidas. Cuando las plántulas tienen dos meses de edad, éstas se lavan bajo agua corriente con el fin de eliminar cualquier contaminante o residuo de

sustrato adherido a las raíces. Posteriormente las raíces se sumergen dentro de una solución conocida de insecticida por 48 h, para que éstas integren el insecticida a su sistema. Las plántulas tratadas se transfieren a un nuevo recipiente que contiene agua destilada y se procede a confinar a los insectos en las plantas tratadas. Boina *et al.* (2009) confinaron las plántulas dentro de envases transparentes de 1.0 L con 10 adultos por plántula y midieron la mortalidad que causó imidacloprid a las 24, 48 y 72 h. Una variante a este bioensayo fue realizado por Ortega *et al.* (1998): después de que las plántulas han absorbido el producto, seleccionan una hoja para sujetar en ella una jaula entomológica de plástico tipo clip, de 4 cm de diámetro, en la que se introducen con un aspirador ,por un orificio lateral de la jaula, 20 individuos con al menos 2 h de ayuno. A las 24, 48 y 72 h después del confinamiento se registra el número de insectos muertos.

3.5.3 Residual por inmersión de hoja

La aplicación residual consiste en sumergir hojas de la planta hospedante durante 5 s en la solución del insecticida a diferentes dosis. Se escurre el exceso del líquido y se sujeta a la lámina foliar una jaula entomológica de plástico tipo clip de 4 cm de diámetro. Por una hendidura lateral de la pinza se introducen 20 adultos de edad conocida y al cabo de 24 h se toman las lecturas de mortalidad (Ortega *et al.*, 1998).

El método de inmersión de hoja y el sistémico fueron empleados por Bann (1989) para medir la susceptibilidad del psílido del peral (*Psylla pyricola*). Concluyó que los valores obtenidos en ambos bioensayos fueron similares.

3.6 Estudios de Resistencia en *Diaphorina citri*

Diversas investigaciones realizadas en otros países documentan que *D. citri* responde favorablemente a la selección, mostrando gran capacidad para sobrevivir a la aplicación de cualquier producto utilizado para su control, sobre todo de aquellos que comparten por lo menos un mecanismo de resistencia con los empleados para el control de otras plagas. Al respecto, Tiwari *et al.* (2010) comentan que la susceptibilidad del PAC a insecticidas selectivos fue mayor en poblaciones que portaban la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus*, causante del HLB. En relación a los estudios de resistencia, Tiwari *et al.* (2011), en Florida, EUA, detectaron la presencia de poblaciones de *D. citri* resistentes a imidacloprid (35 X), clorpirifós (17.9 X) y thiamethoxam (15 X) y después señalan que las enzimas glutatión transferasa y Citocromo P₄₅₀ oxidasas fueron las responsables de conferir dicha resistencia (Tiwari *et al.*, 2012).

Aunque en México no se han realizado estudios específicos para determinar la susceptibilidad de poblaciones de *D. citri* a plaguicidas empleados para su control, se ha evidenciado que en algunas zonas existe tolerancia a los neonicotinoides, organofosforados y piretroides, aunque con el manejo actual se espera que en corto plazo se establezca la resistencia en poblaciones de campo (Tiwari *et al.*, 2011).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el periodo de mayo de 2011 a abril de 2013, en el laboratorio e invernadero de Insectos Vectores del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México y en el ejido La Palma, Municipio de Martínez de la Torre Veracruz, México.

4.1 Material Biológico

En esta investigación se evaluó la susceptibilidad de dos colonias de *D. citri*. La colonia susceptible “Cazones” se estableció en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México, con aproximadamente 1000 adultos colectados de árboles de naranja y plantas de limonaria (*Murraya paniculata* (L.) Jack) de la región citrícola de Cazones, Veracruz, México, mismos que se han mantenido aislados y sin exposición a insecticidas desde 2009. Los adultos se introdujeron en jaulas entomológicas (60×40×60 cm) cubiertas con tela de organza, donde se colocaron plantas de limonaria y naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv Valencia), de 120 d de edad, en macetas de plástico que contenían una mezcla de vermicomposta, tierra de hoja y vermiculita (3:2:1) como medio de soporte. Los adultos se mantuvieron sobre las plantas durante una semana para oviposición, posteriormente se retiraron con un aspirador y las plantas infestadas se mantuvieron en condiciones de invernadero (27±3 °C y 12:12 h L: O) hasta la emergencia de los nuevos adultos; proceso que se realizó en forma periódica para contar con material biológico durante el experimento. Esta colonia se consideró susceptible por estar sin presión de selección con plaguicidas por más de tres años y se usó como referente de comparación.

La colonia procedente del ejido La Palma, Martínez de la Torre, Veracruz (Martínez) se conformó con más de 10 mil adultos que emergieron de ninfas de cuarto y quinto instar presentes en brotes de lima (*Citrus latifolia* Tan) cv Persa aislados en bolsas de malla durante los meses de marzo y abril de 2013. Los adultos se confinaron en pequeños aspiradores en grupos de 20 individuos y se trasladaron en una hielera al lugar donde se realizaron las evaluaciones.

El ejido La Palma comprende un área de 6400 ha dedicadas a la producción citrícola, la cual tiene un historial previo de aplicaciones intensivas de insecticidas. Durante el año 2012, en la región se realizaron aplicaciones trimestrales de dimetoato, malatión y clorpirifós y a finales del mismo año se hicieron aspersiones de una mezcla de thiametoxam y lambdacialotrina. En enero de 2013 se reiniciaron las aplicaciones mensuales de dimetoato con el fin de controlar las poblaciones en periodos de máxima brotación, sin embargo, los productores no percibieron un adecuado control del PAC como en años anteriores (García-Aburto, 2013, comunicación personal)¹.

Para ambas colonias, la determinación de la especie fue corroborada mediante claves para *Psylloidea* propuestas por Yang (1984) y Burckhardt (2007).

¹García Aburto R. 2013. Citricultor y Secretario del comisariado del Ejido La Palma en Martínez de la Torre, Veracruz, México.

4.2 Insecticidas

Se emplearon seis insecticidas grado técnico y una formulación comercial, de diferentes grupos toxicológicos, de acuerdo con la clasificación de Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez (1994), que constituyen los productos más usados y recomendados para el control del PAC; endosulfán (96%) (Hoechst de México) (OC-Cd), dimetoato (98%) (Sigma Aldrich) (FA-SM), malatión (96%) (Chem Service) (F-Cx), metomilo (90%) (Sinochem Hebei Corp.) (CA-MM), abamectina (95%) (Sigma-Aldrich) (I-MICR), y lambdacialotrina (92.1%) (Syngenta Agro) (PIRT-I). Las concentraciones seriadas de los insecticidas se prepararon en acetona grado analítico (Reasol[®]). La formulación comercial de imidacloprid (Helmfidor, 30.20% Helm de México) (NEONIC) se diluyó en agua destilada.

4.3 Bioensayos

En el experimento se emplearon dos métodos de aplicación. Para los insecticidas grado técnico se siguió el método tópico propuesto por Tiwari *et al.* (2011), con ligeras modificaciones. Consistió en mantener a adultos del PAC en ayuno durante 2 h previas a la evaluación, anestésarlos con CO₂ y depositar 0.2 µL de una concentración conocida del insecticida diluido en acetona grado analítico, en el pronoto de cada adulto. El insecticida se aplicó con una jeringa manual de repetición para cromatografía marca Hamilton[®] de 10 µL, acoplada a un microaplicador Hamilton[®] modelo PB-600. Los individuos tratados se transfirieron a cajas Petri (4 cm de diámetro), con tapa de malla de nylon para permitir aireación, que contenían una base de agar-agar (1.5 %) de 3 mL de espesor y sobre ésta un disco de hoja joven de naranja cv Valencia, con el

envés expuesto, que sirvió como sustrato de alimentación para los insectos. Las cajas se mantuvieron en una cámara de cría a 27 ± 1 °C y 50 % HR.

Para la formulación comercial de imidacloprid se empleó el método sistémico propuesto por Boina *et al.* (2009) con ligeras modificaciones. Consistió en sumergir las raíces de plántulas de naranja cv Valencia de 120 d de edad, durante 48 h en una concentración conocida del insecticida diluido en agua destilada. Posteriormente las plantas se transfirieron a nuevos recipientes con agua destilada y en una de las hojas se sujetó una jaula entomológica tipo clip de poliuretano circular, de 3 cm de diámetro. Los adultos se mantuvieron en ayuno durante 2 h previas a la evaluación y posteriormente se introdujeron a la jaula por un orificio lateral, mediante un aspirador. Las plantas tratadas se mantuvieron en las mismas condiciones de la cría.

Para ambos ensayos usaron las dosis de 0.00001, 0.0001, 0.001, 0.01, 0.1 y 1%, para detectar los porcentajes de mortalidad del insecto en el intervalo de cero a 100. Posteriormente se seleccionaron ocho dosis logarítmicas en dicho intervalo para efectuar el bioensayo completo. Para cada dosis se utilizaron 20 individuos de 1 a 6 d de edad y se realizaron cinco repeticiones. Cada repetición incluyó un testigo al cual sólo se le aplicó acetona en el bioensayo tópico o agua destilada en el bioensayo sistémico.

A las 24 h después de la aplicación de insecticidas se registró la mortalidad individual; se consideró adulto muerto aquel sin capacidad de moverse, desplazarse o cambiar de posición cuando se ejerció presión en el abdomen con una aguja de disección. El máximo nivel de mortalidad aceptable para el testigo absoluto fue $\leq 12\%$ y la mortalidad en los tratamientos se corrigió con la ecuación de Abbott (1925).

4.4 Análisis estadístico

Se obtuvo la línea de respuesta log dosis-probit, así como los valores de la DL_{50} , los límites de confianza al 95% y la respuesta relativa (RR), mediante el procedimiento Probit del programa SAS 9.2 (SAS Institute, 2009). Los valores de la RR a 50% de mortalidad se obtuvieron al dividir la DL_{50} de la población de campo entre la DL_{50} de la colonia susceptible. Se consideró que las respuestas de las poblaciones comparadas no fueron significativamente diferentes cuando los límites de confianza se traslaparon (Robertson y Preisler, 1992). Los valores de la DL_{50} y los límites de confianza se expresaron en microgramos por mililitro ($\mu\text{g mL}^{-1}$).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los adultos de *D. citri* mostraron susceptibilidad diferencial a los siete insecticidas evaluados. Para la colonia susceptible (Cazones), la lambdacialotrina mostró la mayor toxicidad a nivel de la DL_{50} ($0.013 \mu\text{g mL}^{-1}$), continuando en orden decreciente con abamectina (0.44), dimetoato (1.2), metomilo (1.95), malatión (3.19) y endosulfán (4.31), de manera que al interpretar por grupo toxicológico, los piretroides (PIRT) (representados por la lambdacialotrina), mostraron la mayor toxicidad, seguidos por los I-MICR y fosforados del grupo FA-SM. De menor toxicidad fueron los carbamatos del grupo CA-MM, los fosforados carboxílicos (F-Cx), así como los organoclorados (OC-Cd) como el endosulfán (Cuadro 2). Imidacloprid mostró una DL_{50} de 1.93.

Las pendientes registradas para todos los insecticidas fueron mayores de 0.84 ± 0.13 , lo cual indicó uniformidad de la colonia para responder a la selección al aplicar los productos evaluados. En el caso de imidacloprid la pendiente fue baja (0.58 ± 0.06).

Para la población de Martínez, al igual que la población Cazones, la lambdacialotrina y la abamectina resultaron ser los más tóxicos según la DL_{50} (0.11 y $0.67 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente), mientras que el metomilo mostró la menor toxicidad ($163.74 \mu\text{g mL}^{-1}$). Por grupo toxicológico, nuevamente los PIRT e I-MICR resultaron los más efectivos. Entre la lambdacialotrina y el metomilo se ubicaron, en orden de efectividad: abamectina ($0.67 \mu\text{g mL}^{-1}$), endosulfán (5.10), malatión (12.1), y dimetoato (105.03). El imidacloprid mostró una DL_{50} de $1.48 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Los bajos valores de la pendiente para dimetoato (0.51 ± 0.03) y malatión (0.53 ± 0.07) indicaron heterogeneidad de la población para responder a la selección. En contraste, la pendiente registrada para los restantes productos varió de 0.64 ± 0.08 (metomilo) a 1.29 ± 0.087 (abamectina) lo que indicó uniformidad de la población para responder a la selección (Cuadro 2).

Los valores de la respuesta relativa (RR) para cada insecticida evaluado en la colonia de Martínez de la Torre (Cuadro 1) indican alta susceptibilidad de la población a los insecticidas abamectina (1.52 X), endosulfán (1.18 X) e imidacloprid (0.76 X), debido a que los valores fueron semejantes a los de la colonia susceptible (Cazones), y hubo un marcado traslape de los límites de confianza. Aunque para malatión y lambda-cialotrina los valores de RR fueron aparentemente bajos (3.87 X y 8.46 X, respectivamente), los límites de confianza muestran una ligera separación respecto a los de la colonia susceptible, por lo que se puede inferir que existen genes de resistencia en la población, aunque con baja frecuencia.

En lo que se refiere a metomilo y dimetoato, la RR_{50} estimada fue de 87.52X y 83.58X, respectivamente, lo cual indica una actividad importante de genes de resistencia del PAC de Martínez de la Torre, aspecto que se confirmó con la separación de los límites de confianza entre una colonia y otra, que indican tolerancia por parte de los adultos de la colonia de campo para sobrevivir a la acción de ambos productos.

Cuadro 2. Toxicidad de insecticidas en adultos de *Diaphorina citri* provenientes de una población susceptible de Cazonos, Veracruz, México y otra de la región citrícola de Martínez de la Torre, Veracruz, México.

Insecticida	Población	n ^o	b±EE [□]	DL ₅₀ [△]	LC 95% [•]	χ ² [■]	RR [▲]
abamectina	Cazonos	800	0.95±0.13	0.44	0.21-0.79	12.20	
	Martínez	800	1.29±0.087	0.67	0.55-0.82	14.91	1.52
lambda-cialotrina	Cazonos	800	0.84±0.13	0.013	0.0052-0.027	37.63	
	Martínez	800	0.79±0.17	0.11	0.026-0.40	20.06	8.46
dimetoato	Cazonos	800	1.6±0.16	1.2	0.86-1.7	98.74	
	Martínez	800	0.51±0.03	105.03	56.23-220.05	183.12	87.52
endosulfán	Cazonos	800	0.93±0.17	4.31	1.7-0.13.2	29.07	
	Martínez	800	0.83±0.10	5.10	2.58-9.34	67.17	1.18
malatión	Cazonos	800	1.37±0.19	3.19	1.74-5.69	48.01	
	Martínez	800	0.53±0.07	12.1	4.13-46.3	46.7	3.87
metomilo	Cazonos	800	1.00±0.21	1.95	.67-5.24	21.81	
	Martínez	900	0.64±0.08	163.74	59.14-447.95	57.08	83.58
imidacloprid	Cazonos	800	0.58±0.06	1.93	0.78-5.32	79.12	
	Martínez	800	0.93±0.15	1.48	.641-3.19	36.96	0.76

○ Número de adultos tratados. □ Error estándar de la pendiente. △ Dosis letal DL₅₀ ng mL⁻¹.
 ● Límites de confianza. ■ Valor de chi-cuadrada. ▲ Respuesta relativa DL₅₀ de Martínez/ DL₅₀ Cazonos.

Los resultados indican que la colonia de Martínez de la Torre presenta resistencia en frecuencias detectables para los insecticidas dimetoato, metomilo, lambdacialotrina y malatión. De acuerdo con información disponible en la región, en los últimos años las plantaciones cítricas han sido tratadas frecuentemente con plaguicidas como metamidofós, permetrina, bifentrina, dimetoato, clorpirifós, malatión, imidacloprid, thiamethoxam, entre otros, con la finalidad de mantener bajo control las poblaciones de pulgones, minadores, escamas, ácaros y psílicos. Por ello, los niveles de tolerancia registrados podrían estar relacionados con el historial de exposición previo. La susceptibilidad relativa de la colonia de Martínez de la Torre a los insecticidas abamectina, endosulfán e imidacloprid, podrían explicarse por la escasa selección de los mecanismos de resistencia, por lo que la frecuencia de genes de resistencia aun no se encuentran en niveles detectables.

Sin embargo, los valores presentados no deben desestimarse, ya que son una prueba de que el manejo actual estaría alterando los niveles de susceptibilidad. En relación a lo anterior, Tiwari *et al.*, (2012) sugieren limitar el uso de abamectina, endosulfán e imidacloprid, debido a que en poblaciones de *D. citri* de Florida, EUA, comprobaron la presencia de enzimas detoxificadoras (GTS y Citocromo P₄₅₀ oxidasa) que les permiten sobrevivir a la aplicación de insecticidas. Especial interés debe dedicarse al imidacloprid, pues aunque resultó efectivo para el combate del PAC, es un producto con alto costo que requiere aplicarse adecuada y oportunamente para que pueda traslocarse y ser efectivo para abatir las poblaciones del PAC.

La tolerancia más alta se registró para el dimetoato (87.52 X), éste es uno de los productos autorizados y más empleados para el control de insectos chupadores (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012) y en el control de *D. citri* en la zonas citrícolas de Veracruz. Debido a la amplia aceptación del dimetoato entre los productores y que habría mostrado adecuada efectividad en poblaciones de campo de diversos insectos chupadores, este producto fue incluido en la lista de productos recomendados en los folletos técnicos distribuidos por el gobierno federal (Cortez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011; Robles-González *et al.*, 2011). Sin embargo, en los mismos se hace énfasis en que el producto sólo debe aplicarse una vez al año y a la dosis recomendada para evitar la selección de insectos resistentes (Cortez-Mondaca *et al.* 2010).

El dimetoato presenta una molécula con diversos puntos donde pueden acoplarse más de cuatro tipos de enzimas detoxificadoras, de modo que cuando se presenta resistencia a este compuesto, podría crearse resistencia cruzada positiva con varios insecticidas que comparten por lo menos un mecanismo de resistencia (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994); este fenómeno es común entre organofosforados y carbamatos (Tiwari *et al.*, 2012).

Lo anterior puede explicar en parte la tolerancia de la población de campo a metomilo (83.58 X) y la separación de las líneas de respuesta entre las poblaciones estudiadas. Al parecer, como anotan diversos investigadores, la acetilcolinesterasa (AChE) y las GTS (Zhu y Gao, 1999; Gao y Zhu 2000; Tiwari *et al.*, 2012), son los mecanismos compartidos e involucrados en la tolerancia al dimetoato y metomilo. El

metomilo no está recomendado para el control de *D. citri* en México y hasta donde se sabe, este producto no se ha empleado en los últimos años para el combate del PAC en Matínez de la Torre, sin embargo, por el fenómeno de resistencia cruzada positiva es posible que se hayan seleccionado individuos resistentes (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994), lo que confirma la importancia de tener la referencia de susceptibilidad de todos los grupos toxicológicos posibles, inclusive de los “nuevos” productos que se autoricen a futuro para el control del PAC, a fin de evitar problemas de control.

Es posible el desarrollo y establecimiento de la resistencia en un escenario en el cual, la presión de selección sea alta, no exista una rotación adecuada de insecticidas o se use el mismo grupo toxicológico (Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009; Ortega *et al.*, 1998). Por tanto, es de esperarse que si se continua la aplicación anárquica y con alta frecuencia de insecticidas en las regiones citrícolas de Veracruz, no solamente habrá resistencia a dimetoato (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994), sino que se corre el riesgo de reducir la vida útil de productos pertenecientes al mismo grupo toxicológico o con los cuales comparte algún mecanismo de resistencia genéricos, como son las GTS y el Citocromo P₄₅₀ oxidasas (Tiwari *et al.*, 2011; Ortega, 1998; Ortega *et al.*, 1998).

El fenómeno de la resistencia es un proceso dinámico (Georghiou y Mellon, 1983; Ortega, 1998), por lo que en cada área agrícola se debe realizar un monitoreo constante para determinar los niveles de susceptibilidad o resistencia a diferentes insecticidas.

Las líneas base obtenidas en este estudio pueden emplearse como referencia para el monitoreo de la resistencia, antes de la aplicación de cualquier producto químico para el control de *D. citri*, a fin de evitar fracasos en el control y retrasar hasta donde sea posible el desarrollo de resistencia.

6. CONCLUSIONES

La población de *D. citri* procedente de Cazonos, Veracruz, México, se consideró susceptible a los insecticidas evaluados.

Los adultos de *D. citri* procedentes de Martínez de la Torre, Veracruz, México, resultaron susceptibles a abamectina (1.52 X), endosulfán (1.18 X) e imidacloprid (0.76 X), tolerantes a malatión (3.87X) y lambdacialotrina (8.46X), y resistentes a dimetoato (87.52 X) y metomilo (83.58 X).

Las líneas log dosis-probit de cada insecticida obtenidos en la población susceptible se pueden utilizar como líneas base de referencia para el manejo de la resistencia de *D. citri* en Veracruz, México; así se evitaría el abuso de los insecticidas y se establecería un esquema confiable para la rotación de productos, objetivos que se buscan en el actual manejo integrado del PAC en México a través de las Áreas Regionales de Control.

7. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Alemán, J., H. Baños, y J. Ravelo. 2007. *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: una combinación destructiva para la producción citrícola. Rev. Protección Veg. 22(3):154-165.
- Batra, R. C., G. S. Sandhu, and D. R. Sharma. 1990. Relative efficacy of different organophosphorous insecticides for the control of psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama. Res. Dev. Rep. 7:53-58.
- Beattie, G. A., and D. Smith. 1993. Citrus leafminer. 2nd ed. Agfact H2.AE.4. NSW Agriculture. Australia.
- Bhagabati, K. N. and T. K. Nariani. 1983. Chemical control of citrus psylla, a vector of citrus greening disease. J. Res. Assam Agric. Univ. 4:86-88.
- Boina, D. R., E. O. Onagbola, M. Salyani, and L. L. Stelinski. 2009. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. Pest Manag. Sci. 65:870-877.
- Boina, D. R., E. O. Onagbola, M. Salyani, and L. L. Stelinski. 2009. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera:Psyllidae) by immunomarking and potential impact of unmanaged groves on commercial citrus management. Environ. Entomol. 38:1250-1258.

- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant. Pathol.* 88:7–37
- Burckhardt, D. 2007. Order Sternorrhyncha, Superfamily Psylloidea. *Arthropod fauna of the UAE.* 1:159-169.
- Cermeli, M., P. Morales, J. Perozo, y F. Godoy. 2007. Distribución del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) y presencia de *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) en Venezuela. *Entomotropica* 22:181-184.
- Cortez-Mondaca, E., J. I. López-Arroyo, L. M. Hernández-Fuentes, A. Fu-Castillo y J. Loera-Gallardo. 2010. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos dulces, en México: Selección de insecticidas y épocas de aplicación. Folleto Técnico No 35. INIFAP, México. 22 p.
- Childers, C. C., M. K. Simms, and D. K. Threlkeld. 2002. Evaluation of insecticides for control of Asian citrus psylla (ACP) on Florida citrus, 2001. *Arthropod Manag. Tests*, 27:D2.
- Childers, C. C., and M. E. Rogers. 2005. Chemical control and management approaches of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in Florida citrus. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 118:49-53.
- Da Graça, J. V. 1991. Citrus greening disease. *Ann.. Rev. Phytopathol.* 29:109-136.

- DGSV. 2007. Campañas fitosanitarias. Comunicaciones, notificaciones y noticias sobre HLB y su vector. <http://www.senasica.gob.mx/?id=2505>. (Fecha de consulta: 30 de septiembre de 2011).
- Díaz-Zorrilla, U., H. Cabrera-Mireles, J. A. Villanueva-Jiménez, F. D. Murillo-Cuevas, e I. López-Arroyo. 2011. Selección de insecticidas y épocas de aplicación para el control del psílido asiático en limón persa en Veracruz. Folleto Técnico No 6. INIFAP, México 16 p.
- Étienne, J., D. Burckhardt, and C. Grapin. 1998. *Diaphorina citri* (Kuwayama) en Guadeloupe, premier signalement pour les Caraïbes (Hemiptera: Psyllidae). Bulletin de la Societe Entomologique de France 103:32.
- Fung, Y. C., and C. N. Chen. 2006. Effects of temperature and host plants on population parameters of the citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). Formosan Entomol. 26:109-123
- Gao, J. R. and K. Y. Zhu. 2000. Comparative toxicity of selected organophosphate insecticides against resistant and susceptible clones of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). J. Agric. Food Chem. 48:4717-4722.
- Georghiou, G. P. and R. B. Mellon. 1983. Pesticide resistance in time and space. pp. 1-46. In: Georghiou G.P. and T. Saito (eds). Pest Resistance to Pesticides. Plenum Press, New York.

- Hall, D. G., and L. G. Albrigo. 2007. Estimating the relative abundance of flush shoots in citrus, with implication on monitoring insects associated with flush. *HortScience* 42:364-368.
- Hall, D. G., M. G. Hentz and R. C. Adair, Jr. 2008. Population ecology and phenology of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in two Florida citrus groves. *Environ. Entomol.* 37(4):914-924.
- Halbert, S. E., and K. L. Manjunath. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Fla. Entomol.* 87(3):401-402.
- Hernández-Fuentes, L. M., M. A. Urias-López, J. I. López-Arroyo, R. Gómez-Jaimes, y N. Bautista-Martínez. 2012. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en lima persa *Citrus latifolia* Tanaka. *Rev. Mex. Cien. Agríc.* 3(3):427-439.
- Kahn, K. M., S. S. Narkhede, and M. N. Borle. 1982. Evaluation of some insecticides for the control of citrus psylla. *Pesticides*, 16:28-29.
- Lagunes-Tejeda, A., J. C. Rodríguez-Maciél, y J. C. de Loera-Barocio. 2009. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México. *Agrociencia* 43:173-196.
- Lagunes-Tejeda, A., y J. A. Villanueva-Jiménez. 1994. Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo. Texcoco, México. 264 p.

- Mead, F. W. 1977. The Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). Entomology Circular 180. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry. 4 p.
- Michaud, J. P. 2004. Natural mortality of Asian citrus Psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. Biol. Control 29:260-269.
- Nava, D. E., M. L. G. Torres, M. D. L. Rodrigues, J. M. S. Bento, and J. R. P. Parra. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on different hosts and different temperatures. J. Appl. Entomol. 131(9-10):709-715.
- Ortega A., L. D. 1998. Resistencia de *Bemisia argentifolii* a insecticidas: Implicaciones y estrategias de manejo en México. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). 49:10-25.
- Ortega A., L. D., A. Lagunes T, J. C. Rodríguez M., C. Rodríguez H., R. Alatorre R., y N. M. Bárcenas O. 1998. Susceptibilidad a insecticidas en adultos de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Homoptera: Aleyrodidae) de Tepoztlán, Morelos, México. Agrociencia 32(3):249-254.
- Ortega, A. L. D., A. Villegas-Monter, A. J. Ramírez-Reyes y E. E. Mendoza-García. 2013. Abundancia estacional de *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) en plantaciones de cítricos en Cazones, Veracruz, México. Acta Zool. Mexicana 29(2):317-333

- Pelz-Stelinski, K. S., R. H. Brlansky, T. A. Ebert, and M. E. Rogers. 2010. Transmission parameters for *Candidatus Liberibacter asiaticus* by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *J. Econ. Entomol.* 103:1531-1541.
- Qureshi, J. A., and P. A. Stansly. 2007. Integrated approaches for managing the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Florida. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 120: 110-115.
- Rae, D. J., W. G. Liang, D. M. Watson, G. A. Beattie, and M. D. Huang. 1997. Evaluation of petroleum spray oils for control of the Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae), in China. *Intern. J. Pest Manag.* 43(1):71-75.
- Robertson, J. L., and H. K. Preisler. 1992. *Pesticide Bioassays with Arthropods*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 127 p.
- Robles-González, M. M., J. J. Velázquez M., M. A. Manzanilla-Ramírez, M. Orozco-Santos, R. Flores-Virgen, y J. I. López-Arroyo. 2011. Insecticidas convencionales, productos alternativos y épocas de aplicación. Folleto Técnico No 1. INIFAP, México, 35 p.
- SAGARPA. 2009. Programa de Trabajo de la campaña de prevención de introducción de plagas cuarentenarias de los cítricos en los Estados de la República, a ejercer con recursos del componente Sanidad Vegetal del Programa Soporte 2009.

- Salcedo, B. D., R. Hinojosa, G. Mora, I. Covarrubias, F. DePaolis, S. Mora, y C. Cíntora. 2010. Evaluación del impacto económico de Huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola mexicana. IICA. México, D.F.
- SAS Institute. 2009. SAS/STAT[®] 9.2 User's guide. Second Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA. 7886 p.
- SENASICA. 2012. Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el Psílido asiático de los cítricos en México. (<http://www.senasica.gob.mx>) (Fecha de consulta: 03 de agosto 2012).
- SIAP. 2008. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.
- Sparks, W. M. 2013. Nuevas estrategias para luchar contra el HLB. Disponible en: (<http://agronota.com/2013/03/nuevas-estrategias-para-luchar-contra-el-hlb/>) (Fecha de consulta: 18 septiembre 2013).
- Tiwari, S., K. Pelz-Stelinski, and L. Stelinski. 2010. Effect of *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection on susceptibility of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides. *Pest Manag. Sci.* 67:94-99.
- Tiwari, S., R. S. Mann, M. E. Rogers, and L. L. Stelinski. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Manag. Sci.*, 67:1258-1268.

- Tiwari, S., L. L. Stelinski, and M. E. Rogers. 2012. Biochemical basis of organophosphate and carbamate resistance in Asian Citrus Psyllid. *J. Econ. Entomol.* 105(2):540-548.
- Tsai, J. H., and Y. H. Liu. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. *J. Econ. Entomol.* 93: 1721-1725.
- Trujillo, A. J. 2009. Comunicado del Director General de Sanidad Vegetal de la SAGARPA al Representante de la Oficina del IICA en México, del 15 de Septiembre de 2009.
- Villanueva-Jiménez, J. A., H. Cabrera-Mireles, R. José-Pablo, L. Aguilar-Román, F. D. Murillo-Cuevas, y U. Díaz-Zorrilla. 2010. Evaluación preliminar de plaguicidas selectivos a enemigos naturales de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), en toronja de la zona central costera de Veracruz. Memorias del 1er Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de las Cítricos y el Huanglongbing en México, Monterrey , Nuevo León, México. 471-478 p.
- Wenninger, E. J., and D. G. Hall. 2007. Daily timing of mating and age at reproductive maturity in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Fla. Entomol.* 90(4):715-722.
- Wenninger, E. J., L. L. Stelinski, and D. G. Hall. 2009. Relationships between adult abdominal color and reproductive potential in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102:476-483.

Yang, C. T. 1984. Psyllidae of Taiwan. Taiwan Museum Special Publication Series 3:1-305.

Zhu, K. Y, and J. R. Gao. 1999. Increased activity associated with reduced sensitivity of acetylcholinesterase in organophosphate resistance greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). Pestic. Sci. 55:11-16.