



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

MODO DE ACCIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ACEITES MINERALES EN EL MANEJO DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

MARIO APÁEZ BARRIOS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2018

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALIAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACION

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe Mario Apáez Barrios, Alumno (a) de esta Institución, estoy de acuerdo en ser participe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta institución, bajo la dirección del Profesor Dra. Laura Delia Ortega Arenas, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis MODO DE ACCIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ACEITES MINERALES EN EL MANEJO DE DIAPHORINA CITRI (HEMIPTERA :LIVIIDAE)

y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, El Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Montecillo, Mpio. de Texcoco, Edo. de México, a 16 de julio de 2018



Firma del
Alumno (a)



Dra. Laura Delia Ortega Arenas

Vo. Bo. del Consejero o Director de Tesis

La presente tesis titulada "**Modo de acción y actividad biológica de aceites minerales en el manejo de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)**", realizada por el alumno: **Mario Apáez Barrios**, 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
FITOSANIDAD
ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA**


CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA




DRA. LAURA DELIA ORTEGA ARENAS

ASESOR



M.C. JORGE MANUEL VALDEZ CARRASCO

ASESOR



DR. JUAN FERNANDO SOLÍS AGUILAR

Montecillo, Texcoco, Estado de México, julio de 2018

MODO DE ACCIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE ACEITES MINERALES EN EL MANEJO DE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Mario Apáez-Barrios, M. en C.
Colegio de Postgraduados, 2018

RESUMEN

Diaphorina citri Kuwayama es una de las plagas más importantes de cítricos debido a que es el vector de *Candidatus Liberibacter asiaticus*, agente causal del Huanglongbing (HLB). Su manejo se basa en el uso de insecticidas y recientemente se ha explorado el uso de productos alternativos de manejo, como los aceites minerales, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad tóxica, repelente, e inhibitoria de la oviposición de los aceites minerales Akaroil[®], Anasef-T[®], Saf-T-Side[®] y Stylet Oil[®] sobre *D. citri*, así como documentar fotográficamente algunas de las alteraciones en el integumento de ninfas causadas por los aceites. La toxicidad sobre ninfas y adultos se determinó mediante aplicación tópica de los aceites en el pronoto, mientras que la actividad toxica sobre huevos e inhibición de la oviposición por el método de aplicación residual. La repelencia se determinó al exponer adultos a una hoja de naranja Valencia previamente tratada. Los cuatro aceites minerales causaron niveles bajos de toxicidad en adultos (mortalidad $\leq 38\%$) a $35 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. En cambio, en ninfas los aceites ocasionaron toxicidad de 100% a la dosis alta y con mortalidad significativa $> 50\%$ a partir de $6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. En huevo, dosis de $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ fueron suficientes para inhibir hasta en 90% la oviposición. Todos los aceites evaluados causaron actividad repelente significativa $\geq 90\%$ a $35 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, no obstante, ésta disminuyó a concentraciones por debajo de $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Como repelente sobresalió el aceite Saf-T-Side ($\text{CR}_{50} = 0.14 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), seguido de Anasef-T, Akaroil y Stylet-Oil, con CR_{50} de 1.33, 1.92 y $3.32 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente, a las 24 h. Los cuatro aceites evaluados afectaron adversamente la integridad de las ninfas tratadas. En todos los casos y en comparación con el testigo, se observó una notoria reducción del espacio interno (celoma) del cuerpo de la ninfa, degradación celular y compactación de órganos internos. Por tanto, se infiere que los aceites minerales representan una herramienta útil en el manejo integrado de *D. citri*.

PALABRAS CLAVE: Cítricos, Psílido Asiático de los Cítricos, huanglongbing, insecticidas alternativos.

MODE OF ACTION AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF MINERAL OILS IN THE MANAGEMENT OF *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

Mario Apáez-Barrios, M. Sc.
Colegio de Postgraduados, 2018

ABSTRACT

Diaphorina citri Kuwayama is one of the most important pests in citrus orchards and is associated with transmission of Huanglongbing (HLB), a disease caused by the bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Chemical insecticides are currently the most common control strategy used; however, other alternatives such as the use of mineral oils has been considered. Based on this, we studied the toxicity, repellence and the inhibitory oviposition activity by the commercial mineral oils Akaroil®, Anasef - T®, Saf-T - Side® and Stylet Oil® on *D. citri*. In addition, the histological alterations caused by these mineral oils in the nymphs' integument were documented photographically. The toxicity against nymphs and adults was determined by topical application of different concentrations of oils on the pronotum, while toxic activity on eggs and inhibition of oviposition by the residual application method. Repellency was determined by exposing adults to previously orange leaves treated with different concentration of mineral oils. The four mineral oils caused an average of 38% mortality at a concentration of 35 mg·mL⁻¹. However, a 100% mortality was obtained when the mineral oils were tested on nymphs at the highest concentration. with significant mortality > 50% from 6 mg·mL⁻¹. Doses as low as 1 mg·mL⁻¹ were enough to inhibit the oviposition in up to 90%. All tested oils caused significant ≥ 90% repellent activity to 35 mg·mL⁻¹, however, this decreased to concentrations below 10 mg·mL⁻¹. The greatest repellent activity was achieved by the oilr Saf-T-Side oil (CR₅₀ = 0.14 mg·mL⁻¹), followed by Anasef-T, Akaroil and Stylet Oil, with CR₅₀ of 1.33, 1.92, 3.32 mg·mL⁻¹, respectively. All four evaluated oils affected the integrity of the treated nymphs; in all cases and in comparison with nymphs from the control treatment, it was observed a significant reduction on the internal space (coelom) of the body, cell degradation and the compaction of internal organs. We conclude that mineral oils represent a useful strategy within the integrated management of *D. citri*.

KEY WORDS: Citrus, Asian Citrus Psyllid, huanglongbing, alternative insecticides.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por permitirme concluir mis estudios de maestría.

Al **pueblo de México**, que, con sus contribuciones al pagar impuesto, el **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** me otorga una beca para poder obtener el grado académico de Maestro en ciencias.

Al **Colegio de Postgraduados**, en especial al programa de **Entomología y Acarología** por la oportunidad que me brindo para la realización de mis estudios de maestría.

A la Dra. **Laura Delia Ortega Arenas**, quien fue mi guía durante dos años, por sus enseñanzas, consejos, regaños, motivación y buena disposición en todo momento, gracias por su amistad, la confianza otorgada y por creer en mí.

Al M.C. **Jorge Manuel Valdez Carrasco**, por sus enseñanzas, ayuda en el desarrollo de la investigación, consejos y buena disposición en todo momento, gracias por su amistad.

Al Dr. **Juan Fernando Solís Aguilar**, por sus valiosas críticas, asesoría, apoyo, buena disposición en todo momento y por su amistad.

Al Dr. **Héctor Gonzáles Hernández**, por sus enseñanzas, participación como sinodal y su amistad.

Al M.C. **Víctor Hugo García Méndez**, por su compañía en el laboratorio, consejos, ayuda en la cría de insectos y amistad.

Al Sr. **Maleno Caballero Espinosa**, por su apoyo en la cría de insectos y mantenimiento de plantas.

A mis compañeras de generación y amigos.

DEDICATORIAS

A mis padres:

Sra. Francisca Barrios Alcocer y Pedro Apáez Ramírez.

A mis hermanos:

Viviana, Patricio, Maricela, Jairo y Alicia.

A mis sobrinos:

Carlos Manuel, Luis Ángel, Derek, Emmanuel, Jaciel, Patricio, Santiago.

A mi hijo:

César Javier, por ser el motor y alegría en mi vida.

A mi esposa:

Odaliz Vidal Reynoso, por ser mi compañera de vida, por su apoyo, cariño y amor.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	iv
ABSTRACT.....	v
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIAS	vii
LISTA DE CUADROS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Distribución de <i>Diaphorina citri</i> – HLB en el mundo.....	5
3.2 Hospederos de <i>Diaphorina citri</i>	6
3.3 Ciclo de vida de <i>Diaphorina citri</i>	6
3.4 Hábitos	6
3.5 Daños ocasionados por PAC	7
3.6 Importancia e impacto de <i>Diaphorina citri</i> – HLB en México.....	7
3.7 Estrategias de control de <i>Diaphorina citri</i> – Huanglongbing	9
3.7.1. Control químico.....	9
3.8 Historia del uso de aceites en el control de plagas.....	10
3.9 Uso de aceites en cítricos	11
3.10 Fitotoxicidad de los aceites	12
3.11 Modo de Acción	12
3.12 Bioensayos para evaluar actividad biológica de aceites minerales contra insectos	13
3.12.1 Aplicación tópica	14
3.12.2 Método residual por inmersión de hoja	14
3.12.3 Método por aspersion	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
4.1 Cría de insectos	15

4.2 Aceites minerales evaluados	16
4.3 Bioensayos	16
4.3.1 Repelencia de aceites minerales sobre adultos de <i>D. citri</i>	16
4.3.2 Toxicidad.....	18
4.3.2.1 Toxicidad en adultos	18
4.3.2.2 Toxicidad en ninfas	19
4.3.2.3 Toxicidad en huevos	19
4.3.3 Inhibición de la oviposición de <i>D. citri</i>	20
4.3.3.1 Análisis estadístico.....	20
4.3.4 Alteraciones en el integumento causadas por los aceites minerales en ninfas de <i>D. citri</i>	21
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
5.1 Repelencia de aceites minerales en adultos de <i>D. citri</i>	22
5.2 Toxicidad.....	26
5.2.1 Toxicidad en adultos.....	26
5.2.2 Toxicidad en ninfas	27
5.2.3 Toxicidad en huevos.....	28
5.3 Inhibición de la oviposición de <i>D. citri</i>	30
5.4 Alteraciones en el integumento causadas por los aceites minerales en ninfas de <i>D. citri</i> ..	31
6. CONCLUSIONES	36
7. LITERATURA CITADA	37

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Repelencia (%) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> a las 4, 5, 6 y 24 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.....	24
2. Mortalidad (%) de adultos de <i>Diaphorina citri</i> a las 24 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.....	27
3. Mortalidad (%) de ninfas del quinto instar de <i>Diaphorina citri</i> a las 24 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.....	28
4. Mortalidad (%) de huevos de <i>Diaphorina citri</i> a los 5, 6 y 7 días después de la aplicación de aceites minerales.....	29
5. Inhibición de oviposición de <i>Diaphorina citri</i> a las 48 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Mapa de distribución de <i>Diaphorina citri</i> en el mundo.....	5
2. Mapa de distribución de <i>Candidatus Liberibacter</i> en el mundo.....	5
3. Arena experimental empleada en pruebas de repelencia de adultos de <i>Diaphorina citri</i>	18
4. Testigo con aplicación de acetona grado técnico A) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de <i>Diaphorina citri</i> , B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μm).....	33
5. Tratamiento Akaroil (1%). A y B) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de <i>Diaphorina citri</i> , C y E) Corte transversal D) Corte longitudinal. (Escala 500 μm).....	33
6. Tratamiento Anasef-T (1%). A) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de <i>Diaphorina citri</i> , B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μm).....	34
7. Tratamiento Saf-T-Side (1%). A) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de <i>Diaphorina citri</i> , B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μm).....	34
8. Tratamiento Stylet-Oil (1%). A) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de <i>Diaphorina citri</i> , B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μm).....	35

1. INTRODUCCIÓN

La citricultura mexicana constituye una actividad de suma importancia en el sector rural, con una producción de 7, 642,870 toneladas en una superficie de 559,023 hectáreas (SIAP, 2017). En 2012, México se posicionó como el quinto país productor de cítricos en el mundo (SAGARPA, 2012). Dicha producción se ve afectada por el Psílido Asiático de los Cítricos (PAC) *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Liviidae) vector primario de *Candidatus Liberibacter*, causante de la enfermedad más devastadora en cítricos en el mundo conocida como Huanglongbing (HLB) (Halbert y Manjunath, 2004; Halbert y Nuñez, 2004; Bové, 2006; Manjunath *et al.*, 2008). El manejo integrado del HLB se lleva a cabo mediante el empleo de varias prácticas como el uso de plantas certificadas, eliminación de árboles enfermos y control del vector (Qureshi y Stansly, 2007; Mora *et al.*, 2013; Lewis-Rosenblum *et al.*, 2015). El control del vector es la estrategia predominante y se realiza por medio del control químico con insecticidas de diferente grupo toxicológico (Boina *et al.*, 2009), práctica que ha repercutido, en algunos casos, en la creación de poblaciones resistentes a insecticidas (Tiwari *et al.*, 2012; García-Méndez *et al.*, 2016), contaminación ambiental e impacto en la salud humana (Liu y Beattie, 2002; Montaña *et al.*, 2008; del Puerto *et al.*, 2014).

Además del uso de insecticidas como principal estrategia de control se han explorado otros productos para el manejo de plagas en diversos cultivos incluyendo cítricos, como los aceites derivados del petróleo con acción insecticida. Los aceites minerales se utilizan desde principios del siglo XIX, para el control de plagas en cítricos (Davidson *et al.*, 1991; Ripollés *et al.*, 1995; Martínez *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2009; Hoy, 2011). Son efectivos contra un rango amplio de insectos pequeños y con poca movilidad (sésiles); escamas, moscas blancas, ácaros, piojos harinosos, áfidos, psílidos, entre otros, los cuales quedan cubiertos por una fina película de aceite y por tanto mueren (Davidson *et al.*, 1991; Rae *et al.*, 1997; Childers, 2002).

La fitotoxicidad es el principal inconveniente en el uso de estos productos (Davidson *et al.*, 1991; Pérez y Montes, 1992). Razón por la cual se han desarrollado procesos de refinación del petróleo, además del uso de aditivos UV, lo que ha contribuido a la producción de aceites con características aptas para uso agrícola (Agnello, 2002; Hodgkinson *et al.*, 2002). Diversas

referencias reportan que los aceites minerales son seguros a enemigos naturales, no promueven el desarrollo de resistencia, presentan baja toxicidad a vertebrados y su degradación es rápida en el ambiente (Davidson *et al.*, 1991; Beattie *et al.*, 1995; Rae *et al.*, 2006). Específicamente en cítricos, los aceites muestran efecto tóxico y repelente contra el PAC (Leong *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2013), además de efectos ovicidas mediante la alteración en el intercambio de gases, coagulación del protoplasma, endurecimiento del corion, inhibición de la emergencia (Smith y Salkeld, 1966; Leong *et al.*, 2012).

El efecto tóxico se asocia con la interacción entre las propiedades físico-químicas del aceite y las características anatómicas, fisiológicas y de comportamiento del insecto (Riedl *et al.*, 1995; Rae *et al.*, 1997; Stansly *et al.*, 2002; Taverner, 2002; Nguyen *et al.*, 2007); efecto que se manifiesta como asfixia (Kallianpur *et al.*, 2002; Taverner, 2002), ruptura del integumento, alteración de la actividad enzimática y hormonal (Smith y Salkeld, 1966), disrupción nerviosa, narcosis, corrosión, disrupción celular y/o desecación (Rand *et al.*, 1995). En cambio, la repelencia se relaciona con la supresión de volátiles liberados por las plantas al formar una fina película sobre la superficie foliar y el efecto directo de los compuestos liberados por la degradación del aceite, además de la inhabilitación de sitios de alimentación y oviposición (Rae *et al.*, 1997; Stansly *et al.*, 2002; Mensah *et al.*, 2005; Nguyen *et al.*, 2007; Ouyang *et al.*, 2008). En México se promueve el uso de los aceites minerales para el combate de PAC en campo, ya sea empleándolos como coadyuvantes y/o en combinación con insecticidas convencionales (SENASICA, 2012) con aparentes buenos resultados de control (Stansly, 2012).

Debido a que México es uno de los principales productores de cítricos en el mundo, es preocupante el panorama futuro, al tener presente a *D. citri* y *C. Liberibacter* en las principales zonas productoras (Halbert y Núñez, 2004; Trujillo, 2010; Hall *et al.*, 2013), por lo que es importante la evaluación de herramientas disponibles, que conlleven al manejo de las poblaciones de *D. citri* y el control de la dispersión de *C. Liberibacter*.

El uso de los aceites minerales como coadyuvantes implica cierto riesgo al propiciar una mayor presión de selección al aumentar la persistencia de los insecticidas químicos. Por ello es importante conocer si los aceites minerales poseen actividad biológica propia contra los diferentes estados de

desarrollo del PAC, para poder emplearlos individualmente. Se han realizado estudios sobre la actividad biológica de los aceites minerales, mayormente en condiciones de campo, y se han obtenido resultados inconsistentes. Por ello se planteó como objetivos evaluar el efecto de los aceites minerales sobre los diferentes estados de desarrollo de *Diaphorina citri*.

2. OBJETIVOS

Actualmente, la información sobre el modo de acción y uso de aceites minerales, para el manejo de *D. citri* es escasa. Por tanto, la presente investigación tuvo como objetivos:

- ✓ Determinar la actividad repelente de aceites minerales en adultos de *D. citri*.
- ✓ Determinar la actividad tóxica de aceites minerales en huevos, ninfas y adultos de *D. citri*.
- ✓ Determinar las alteraciones morfológicas ocasionadas por aceites minerales en ninfas del quinto instar de *Diaphorina citri*.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Distribución de *Diaphorina citri* – HLB en el mundo.

Diaphorina citri fue descrita por primera vez en Taiwán en 1907, es considerada una plaga cuarentenaria y está distribuida en todas las zonas citricolas del mundo. Actualmente se encuentra en 63 países de cinco continentes (América, Asia, Europa, Oceanía y África) (EPPO, 2018), mientras que *Candidatus Liberibacter asiaticus* está distribuido en 56 países.

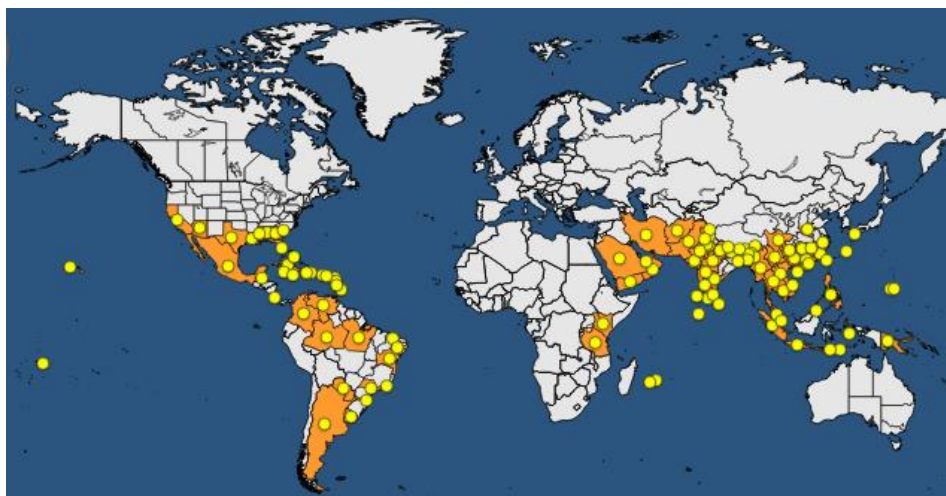


Figura 1. Mapa de distribución de *Diaphorina citri* en el mundo (Fuente: EPPO, 2018) <https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/distribution>.

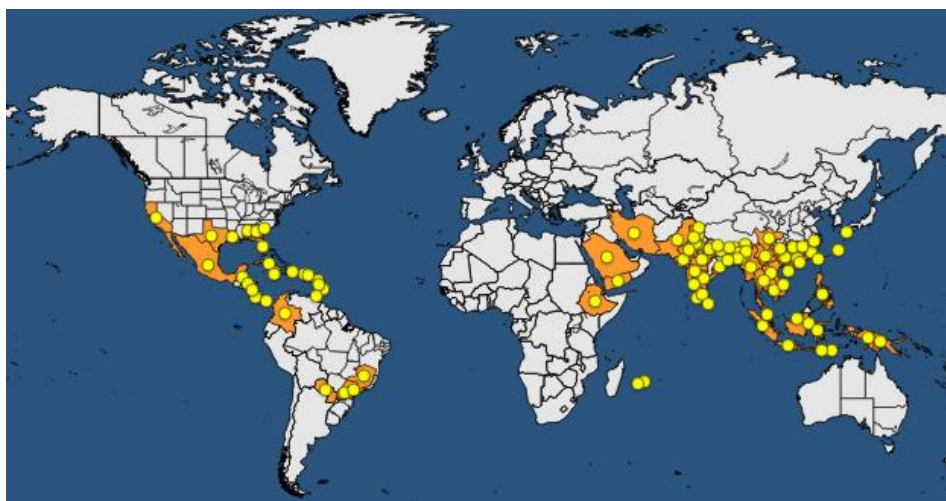


Figura 2. Mapa de distribución de *Candidatus Liberibacter* en el mundo (Fuente: EPPO, 2018) <https://gd.eppo.int/taxon/LIBEAS/distribution>

3.2 Hospederos de *Diaphorina citri*

El Psílido Asiático de los cítricos (PAC), se alimenta principalmente de plantas de la familia Rutaceae y una especie de la familia Moraceae, donde se incluyen al menos 43 especies dentro de 14 géneros (*Aegle*, *Aeglopsis*, *Afraegle*, *Artocarpus*, *Atalantia Balsamocitrus*, *Citropsis*, *Citrus*, *Clausena*, *Eremocitrus*, *Fortunella*, *Limonia*, *Merrillia* y *Microcitrus*) (Halbert y Manjunath 2004). Aubert y Hua (1990), mencionan que tiene mayor preferencia por Limonaria (*Murraya paniculata*) y limón mexicano (*Citrus aurantifolia*).

3.3 Ciclo de vida de *Diaphorina citri*

El ciclo de vida del PAC en limonaria (*Murraya paniculata*) se completa en 15 - 17 días en promedio. El PAC tiene un alto potencial reproductivo, con una producción promedio de huevo por hembra de 650-748 huevos (Tsai y Liu, 2000; Nava *et al.*, 2007; Ramírez- Sánchez *et al.*, 2016). Fonseca *et al.* (2007), señalan que la duración del ciclo de vida de *D. citri* no se modifica entre hospederos. La duración en estado de huevo es de 4 días, presenta cinco estadios ninfales con una duración aproximada de 13 días (Ramírez- Sánchez *et al.*, 2016). El adulto llega a vivir de 3 a 4 meses y su desarrollo y ciclo de vida se altera en función de las condiciones ambientales (Yang *et al.*, 2006).

3.4 Hábitos

Los adultos de PAC no son de hábitos migratorios, ya que tienen baja capacidad para el vuelo, debido a que sus músculos alares no están bien desarrollados, esto les dificulta su dispersión, cuando se perturba su nicho tienden a saltar de una hoja a otra, solo se pueden mover de 3 a 5 metros de esta forma y así dispersar la enfermedad en un lote de cultivo y formar colonias en nuevos árboles (López *et al.*, 2005). Boina *et al.* (2009), determinó que en tres días se desplaza hasta 100 metros y Lewis (2011), observó que se pueden dispersar hasta 2 km en un lapso de 12 días. Para la dispersión a mayores distancias los insectos pueden elevarse de 5 a 7 metros y ser arrastrados por el viento hasta 4 km o más en función de la velocidad de las corrientes de aire (Aurambout *et al.*, 2009).

Las ninfas y adultos se alimentan activamente sobre la superficie de hojas, pecíolos, yemas axilares y tallos jóvenes. La oviposición ocurre solamente en brotes tiernos, pliegues foliares, pecíolos, brotes axilares y tallos tiernos (Tsai y Liu, 2000).

Una de las formas de reconocimiento de PAC, es por la posición de 45 °, que adopta el adulto al momento de alimentarse (Augier *et al.*, 2006; García *et al.*, 2016).

3.5 Daños ocasionados por PAC

El PAC ocasiona daños directos e indirectos; los indirectos se consideran los más importantes, porque transmite el agente causal de la enfermedad conocida como huanglongbing (HLB), enverdecimiento de los cítricos o enfermedad del dragón amarillo, el agente causal es la bacteria *Candidatus Liberibacter*. La transmisión se lleva a cabo por los adultos y ninfas del cuarto y quinto ínstar, principalmente (Bové, 2006; Li *et al.*, 2006).

El psílido adquiere la bacteria al momento de alimentarse del floema de brotes tiernos y después de adquirirla es capaz de transmitirla toda su vida (Xu *et al.*, 1990). Los árboles infectados pueden morir en un lapso de tres años (Rogers y Stansly, 2006; Polek *et al.*, 2007), además en altas infestaciones se da una alta producción de mielecilla que cubre las hojas y da lugar al crecimiento de hongos (Fumagina) (Halbert *et al.*, 2004).

Los daños directos los ocasionan las ninfas y adultos al momento de alimentarse, succionan grandes cantidades de savia e inyectan toxinas, provocan la aparición de brotes amarillentos y malformados, caída de follaje, flores, frutos, y detención del crecimiento, lo cual se traduce en una merma en la productividad de árboles (Rogers y Stansly, 2006; Ramos, 2008; García, 2009).

3.6 Importancia e impacto de *Diaphorina citri* – HLB en México.

El Psílido Asiático de los Cítricos (PAC) *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) es una plaga de suma importancia en la citricultura, por ser vector primario de la bacteria *Candidatus Liberibacter* var. *asiaticus* y *americanus*, causante de la enfermedad conocida como Huanglongbing

(HLB), dragón amarillo o enverdecimiento de los cítricos. Los arboles infectados se vuelven improductivos y mueren en un lapso de tres a ocho años, por esta razón se le considera la enfermedad más destructiva en el mundo (Halbert y Manjunath 2004; Bové, 2006; Mead, 2007; Bové, 2012). En México la detección de *D. citri* por primera vez fue en el año 2002, en el estado de Quintana Roo y Campeche, actualmente el PAC se encuentra distribuido en todas las zonas citrícolas del país (López *et al.*, 2005; López *et al.*, 2009; López *et al.*, 2013; Varela *et al.*, 2013). Mientras que *Candidatus Liberibacter* se detectó en el año 2009 (Trujillo, 2010), en la actualidad el HLB se encuentra diseminado en 24 estados productores de cítricos (Robles-González *et al.*, 2013; SENASICA, 2017).

El impacto por *Candidatus Liberibacter* en el país se divide en dos regiones, por la intensidad y presencia; región pacífico (alta intensidad), región península (baja intensidad) (Mora-Aguilera *et al.*, 2014). Se tienen reportadas pérdidas en limón mexicano y limón persa de 62 y 17.3 %, respectivamente (Flores *et al.*, 2012; Robles-González *et al.*, 2013). Por otro lado, de acuerdo a estimaciones del impacto se determinó, que el daño varía de 20 a 48 % en los primeros años y podría originar un impacto económico alto con una pérdida de 19.3 millones de jornales, mientras que en un escenario de bajo impacto se tendría una pérdida de 4 millones de jornales (Salcedo *et al.*, 2010), en un lapso de 5 a 10 años donde se prevé una reducción del rendimiento e inclusive la muerte de árboles (Bassanezi y Bassanezi, 2008).

En México se encuentra presente el vector y la enfermedad, por lo que la citricultura mexicana se encuentra en un alto riesgo ya que de ella dependen 69,000 productores y 154,000 empleos directos, es preciso destacar que la citricultura representa el 40% de la superficie nacional destinada a la producción de frutales, por ello es importante el adecuado manejo del vector, ya que la enfermedad hasta el momento no tiene cura (Salcedo *et al.*, 2010).

El HLB al mes de junio de 2018 se encuentra presente en 492 municipios de 24 estados de México, de los cuales, 398 se consideran citrícolas, representando así el 54% del total de municipios dedicados a cultivar cítricos. Se estima que la superficie comercial con presencia de la enfermedad es del 15% con relación a la superficie nacional (589,758 has). Para atender el problema en 2017 se destinaron 161.7 millones de pesos para ejecución de la campaña contra el

HLB, mientras que para el 2018 el presupuesto asignado fue de 267.1 millones (SENASICA, 2018b).

En la campaña contra el HLB, se han realizado acciones para proteger alrededor de 573,406 hectáreas de cítricos. Acciones como la vigilancia estratégica, diagnóstico, capacitación, monitoreo, control químico y biológico.

La principal acción se basa en el control de *D. citri* en Áreas Regionales de Control (ARCOs), por lo que se tienen establecidas 90 ARCOs en los 24 estados productores de cítricos, donde destaca Michoacán con 20, Veracruz con 15 y Yucatán con 10. Los insecticidas utilizados para el control de *D. citri* son recomendados por el grupo técnico de cada estado y deben de contar con registro para su uso contra *D. citri* ante COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitario). Además, se contempla el control biológico mediante el empleo de hongos entomopatógenos (*Isaria javanica* y *Metarrhizium anisopliae*) en los estados de Campeche, Nayarit, Quintana Roo e Hidalgo, además de la liberación de 1.9 millones de individuos de *Tamarixia radiata* en zonas urbanas y aledañas a los ARCOs (SENASICA, 2017).

También se tiene un sistema de monitoreo de *D. citri*, y se realiza con trampas ubicadas en lugares estratégicos dentro y fuera de los ARCOs, los niveles de infestación promedio detectados fueron de 1.19 psílicos/trampa (SENASICA, 2018a).

3.7 Estrategias de control de *Diaphorina citri* – Huanglongbing

El manejo del HLB y el PAC, se centra en tres estrategias primordiales, que comprenden el control del vector, la eliminación de plantas con síntomas de HLB y el uso de plantas certificadas (Childers *et al.*, 2002; Qureshi y Stansly, 2007; Robles, 2012) y se puede considerar el manejo de la nutrición o fertilización como una cuarta estrategia.

3.7.1. Control químico

El control químico del PAC se ha llevado a cabo mediante el empleo de insecticidas de diversos grupos químicos (organoclorados, organofosforados, carbamatos, neonicotinoides, piretroides,

ciclodienos, spinosinas, botánicos, sales minerales de potasio, triazapentadienos y aceites minerales) (Cortez-Mondaca *et al.*, 2010; Cortez-Mondaca *et al.*, 2013).

El uso excesivo de los insecticidas, sin enfoque de manejo de la resistencia mediante la rotación de grupos toxicológicos y modos de acción, trae como consecuencia la emergencia o creación del fenómeno de resistencia a las diferentes moléculas (Tiwari *et al.*, 2011; Vázquez-García *et al.*, 2013, García-Méndez *et al.*, 2016).

El fenómeno de resistencia es un tema preocupante, por ello, recientemente Tiwari *et al.* (2011), determinaron el nivel de resistencias de PAC a las moléculas empleadas para su control y encontraron altos niveles de resistencia a imidacloprid (35 X), clorpirifos (17.9 X), thiametoxam (15 x). En México, García-Méndez *et al.* (2016) encontraron resistencia a dimetoato (87.52 X) y metomilo (83.58 X).

Además de los insecticidas convencionales existen otras alternativas para el control de *D. citri*, entre ellas se encuentran los aceites derivados del petróleo (Davidson, 1991). Los aceites derivados del petróleo se han empleado también para el control del PAC y se acepta que son efectivos contra insectos pequeños y sésiles, ya que la efectividad de estos depende de un buen cubrimiento (Rae *et al.*, 1997). Los aceites minerales han constituido una herramienta en el control de diversas plagas incluyendo *D. citri*, por lo que en los últimos años se ha desarrollado investigación con el fin de demostrar y probar su eficacia (Childers y Rogers, 2005; Poerwanto *et al.*, 2011; Ouyang *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2013; Qureshi *et al.*, 2014; Pérez-Zarate *et al.*, 2016).

3.8 Historia del uso de aceites en el control de plagas

El uso de aceites para el control de plagas se remonta al año 1870, donde se observó que el Keroseno presentaba efecto tóxico en insectos. En ese tiempo, uno de los inconvenientes para implementar el uso extensivo de los aceites fue su efecto fitotóxico, por lo que a mediados de 1920 se desarrollaron tecnologías para refinación, constituyendo este el principal avance en el desarrollo productos para el control de plagas, acción que minimizó el problema de fitotoxicidad, interesando con ello a la industria de los frutales.

Aunque se mostró interés en el uso de los aceites, después de la segunda guerra mundial, con la llegada de DDT, todo cambió y se desvió la atención. Después entre 1970 y 1980 volvió el interés debido al surgimiento de resistencia en ácaros y varias especies de insectos a dicho producto (Davidson *et al.*, 1991). El desarrollo en los procesos de refinación de petróleo y el uso de aditivos UV ha contribuido a la producción de aceites con mejores características para uso agrícola (Agnello, 2002; Hodgkinson *et al.*, 2002). Hoy en día en el mercado existe una amplia variedad de productos a base de aceites de petróleo con un potencial de uso igual al de los insecticidas convencionales, aunque tienen algunas limitantes como el que están dirigidos a ciertos grupos de insectos y/o estados biológicos específicos. Los aceites en general son efectivos para el control de escamas, moscas blancas, ácaros, chicharritas, piojos harinosos, orugas, áfidos, polillas y psílidos, insectos que se caracterizan por presentar estados de desarrollo sésiles o de poca movilidad, lo que los hace vulnerables a la acción de los aceites (Davidson *et al.*, 1991; Rae *et al.*, 1997; Childers 2002).

El empleo de aceites tiene características positivas como su selectividad a enemigos naturales, baja toxicidad para vertebrados relacionada con su baja residualidad, fácil degradación y moderada acción para crear resistencia (Davidson *et al.*, 1991; Beattie y Smith, 1993) en comparación con los insecticidas convencionales, han hecho que estos productos se mantengan en el mercado.

3.9 Uso de aceites en cítricos

Entre los años 1920 y 1930 se comenzaron a utilizar los aceites para el manejo de plagas en cítricos y se le dio importancia al grado de destilación y cantidad de residuos no sulfonados, que son características importantes para el uso agrícola. Entre otros, se utilizaron para el combate de la escama roja de California (*Aonidiella aurantii*), acaro rojo de los cítricos (*Panonychus citri*) y moscas blancas (Davidson *et al.*, 1991). En Australia se emplearon para el control de minadores (Beattie y Smith, 1993), escamas armadas, escamas suaves y ácaros (Beattie, 1990).

En específico para el manejo del PAC, los aceites han resultado efectivos, principalmente contra huevos y ninfas, puesto que provocan toxicidad, siendo las ninfas jóvenes más susceptibles que los huevos y adultos (Rae *et al.*, 1997; Macías-Rodríguez *et al.*, 2013; Varela *et al.*, 2013). El

aceite forma una película, por lo que se sugiere que provocan inhabilitación de los sitios de oviposición y en consecuencia reducción de poblaciones de adultos en la siguiente generación (Rae *et al.*, 1997).

Actualmente, en México, se ha extendido el uso de aceites derivados del petróleo en cultivos de cítricos, para su aplicación en áreas regionales de control (ARCOs) contra el PAC. Sin embargo, la efectividad de éstos es variable ya que Pérez-Zarate *et al.* (2015) señalan que, en campo, los niveles de control de ninfas no superan el 40%, mientras que Díaz-Zorrilla *et al.* (2010) aseguran que se logró 50% de control a una dosis de 2 L ha⁻¹ y Ruiz-Galván *et al.* (2015) en condiciones de invernadero obtuvieron un 87 % de control a 1 L/100 de agua. La diferencia en efectividad de los aceites minerales se atribuyó a factores operacionales como la calibración de equipos de aplicación, tamaño de gota, velocidad del viento, cobertura y hora de aplicación, (López *et al.*, 2008; Pérez-Zarate *et al.*, 2015), siendo la cobertura uno de los aspectos de mayor importancia.

3.10 Fitotoxicidad de los aceites

La limitante en el uso extensivo de los aceites de petróleo es la fitotoxicidad, dicha característica se confiere al contenido de residuos sulfonados, estructura de la molécula y viscosidad, características fácilmente manipulables en los procesos de elaboración, especialmente en la destilación y refinación de estos (Davidson *et al.*, 1991). El desarrollo de los procesos de refinación y destilación, así como también el uso de aditivos UV ha contribuido a hacer formulaciones de aceites minerales aptos para su uso en diferentes cultivos (Agnello, 2002; Hodgkinson *et al.*, 2002). Actualmente los aceites minerales causan fitotóxicidad solo cuando se aplican a dosis altas y en cultivos sensibles a estos compuestos.

3.11 Modo de Acción

Generalmente se acepta que los aceites actúan por contacto, por tanto, se requiere que los insectos, a los que va dirigido el control, al momento de la aplicación, estén presentes. El principal modo de acción es la asfixia, mediante el bloqueo de espiráculos. La muerte en promedio ocurre en 24 horas, afectando el sistema nervioso, músculos y en general los procesos fisiológicos. En

huevos se presentan alteraciones en el intercambio gaseoso, coagulación de protoplasma, endurecimiento del corion, alteración de la actividad enzimática y hormonal (Smith y Salkeld, 1966; Davidson *et al.*, 1991, Naja-Rodríguez *et al.*, 2008). Taverner (2002) señala que los aceites actúan como fumigantes sobre los insectos, provocando anoxia, disrupción nerviosa, narcosis, corrosión, disrupción celular y/o desecación.

Recientemente se les ha conferido a los aceites de petróleo efecto repelente específicamente sobre PAC, inhibiendo o afectando la oviposición y alimentación en plantas tratadas (Leong *et al.*, 2012; Ouyang *et al.*, 2013; Cázares *et al.*, 2014). La repelencia propiciada por los aceites minerales puede originarse a partir de la liberación de volátiles a través de la descomposición de los mismos, bloqueo de liberación de volátiles del hospedero por la formación de una película fina sobre la superficie del follaje, y enmascaramiento de volátiles, lo cual dificulta el reconocimiento del huésped por el insecto fitófago (Ouyang *et al.*, 2008; Poerwanto *et al.*, 2011).

Con relación a los efectos de los aceites en el integumento de los insectos no se cuenta con información precisa. Lo poco que se conoce de los aceites minerales es que cuando se aplican a insectos plaga estos reaccionan con la capa de cera, alterando con ello su integridad y la permeabilidad (Wigglesworth, 1945). La alteración en la permeabilidad de la cutícula tiene como consecuencia la pérdida de agua y el acceso de otras sustancias (Gibbs, 1998). La deshidratación del insecto causa su muerte provocando que al paso del tiempo la cutícula se torne de color oscuro (Najar-Rodríguez *et al.*, 2008).

3.12 Bioensayos para evaluar actividad biológica de aceites minerales contra insectos

Banki (1978) define al bioensayo como un procedimiento experimental por medio del cual se infiere la efectividad biológica de una sustancia. Por otra parte (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994), mencionan que es cualquier método que sirve para medir en términos de respuesta biológica, la propiedad de una sustancia o material, por consiguiente, con el bioensayo se determina la actividad de la sustancia en los insectos. Mientras que Rodríguez *et al.* (2009), lo definen como cualquier prueba (evaluable) que tenga como componentes organismo vivos.

El bioensayo posee dos componentes principales el estímulo y la respuesta. El estímulo generalmente se refiere a una sustancia tóxica y la respuesta puede ser la muerte o alguna alteración en el metabolismo del insecto o cambio de conducta. Existen dos tipos de bioensayo, los directos y los indirectos, generalmente en estudios de toxicología en insectos y ácaros se utilizan los indirectos que son los apropiados para fines de investigación, tienen como características importantes el que debe de obtener una respuesta cuantitativa, de todo o nada (vivos o muertos) y el que debe estimar la respuesta de toda la población por medio de la muestra tratada (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994).

3.12.1 Aplicación tópica

La aplicación tópica consiste en la deposición de una cantidad conocida de insecticida, diluida en una cantidad conocida, sobre alguna parte del cuerpo del insecto. Es un método de aplicación que se emplea en bioensayos generalmente para detección de resistencia, o para determinar la respuesta biológica. Se utilizan jeringas de diferentes volúmenes que van de los 500 μL a 0.1 μL , acopladas a microaplicadores de repeticiones que dan volúmenes por disparar de 1 a 0.1 μL Insecto⁻¹, con este tipo de aplicación se asegura que una cantidad conocida de insecticida entre en contacto con el insecto. Como arena experimental generalmente se utilizan cajas Petri con un fondo de agar a 1.5% y sobre este un disco de la planta hospedera del insecto en estudio (Tiwari *et al.*, 2011). La mortalidad se registra a las 24 y 48 horas después de tratar a los organismos prueba.

3.12.2 Método residual por inmersión de hoja

La aplicación residual consiste en sumergir hojas o discos de plantas durante cinco segundos en la solución prueba a diferentes dosis. Posteriormente se escurre el exceso de líquido y se deja secar a temperatura ambiente. El pecíolo de las hojas tratadas se sumerge en un vial con agua para mantener turgente la hoja, posteriormente se encierra en una arena experimental y después se introducen los 20 individuos por un orificio y al cabo de 24 horas se toman lecturas de mortalidad y/o repelencia (Ortega, 1988). La ventaja de este método consiste en que en el periodo de realización del bioensayo la probabilidad de que el insecto se ponga en contacto con la sustancia

prueba es alta; sin embargo, no se conoce con exactitud la cantidad de sustancia que se pone en contacto con el insecto y se requiere más tiempo para su realización.

3.12.3 Método por aspersión

Los bioensayos por aspersión son los más utilizados, este método consiste en la aspersión de una cantidad conocida de insecticida por un tiempo determinado sobre un organismo. La aspersión se puede llevar a cabo directamente en planta, plántula, hoja o disco de hoja, o en los insectos (en diferentes estados de desarrollo). Para su cometido se utilizan diversos equipos, entre los que se encuentran los aspersores manuales, en los cuales no se tiene control de presión y volumen y por otro lado la torre de aspersión Potter-Burgenjon, en donde se estandariza con precisión la altura de la boquilla, presión y volumen asperjado. El tiempo que debe transcurrir después de una aspersión es de 24 a 48 horas, en donde se registran como muertos a los insectos paralizados, moribundos o que no reaccionen al contacto con un pincel (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el periodo de julio 2017 a julio 2018, en los laboratorios de Morfología de Insectos e Insectos Vectores del Colegio de Postgraduados, Montecillo, en Texcoco, México, con insectos criados en condiciones de invernadero.

4.1 Cría de insectos

Se utilizaron individuos de la colonia de *D. citri* existente en el área de Insectos Vectores del Colegio de Postgraduados, Texcoco, Campus Montecillo, México, la cual fue establecida desde el 2009, con aproximadamente 1000 adultos (proporción sexual 1:1, macho: hembra) recolectados en huertos de naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck Rutaceae) cv. Valencia y plantas de limonaria (*Murraya paniculata* (L.) Jack Rutaceae) en la comunidad de Cazones de Herrera, Veracruz, misma que se ha mantenido bajo cría continua y aislada en invernadero.

Para incrementar la colonia, los adultos de *D. citri* se introdujeron en jaulas entomológicas de madera (60 x 40 x 60 cm) cubiertas con tela de organza, donde se colocaron plantas de *C. sinensis* cv. Valencia de 120 días de edad, plantadas en bolsas de plástico de 5 L de capacidad que contenían una mezcla de vermicomposta, tierra de hojas y vermiculita (3: 2: 1) como medio de soporte. Los adultos se mantuvieron sobre las plantas durante una semana para que ovipositaran, después se retiraron con ayuda de un aspirador bucal y las plantas infestadas se mantuvieron en las jaulas en condiciones de invernadero (27 ± 3 °C y 12:12 L: O) hasta obtener huevos, ninfas y adultos; proceso que se realizó periódicamente para contar con material biológico durante la fase experimental.

4.2 Aceites minerales evaluados

Se evaluaron cuatro aceites minerales de uso común para el control de *D. citri* en las principales zonas productoras de cítricos en México y EE. UU (SENASICA, 2012; Stansly y Kostyk, 2012). Los productos utilizados fueron: Akaroil® (Altriara, Ciudad de México, México, aceite mineral a 98.5%, residuo insulfonable (UR) = 92%); Anasef-T® (Anajalsa, Jalisco, México, aceite parafínico a 80%, UR no disponible); Saf-T-Side® (Imex, Jalisco, México, aceite parafínico 80%, UR 92%) y Stylet Oil® (Gowan Mexicana, Baja California, México, aceite mineral 97.1%, UR 99%). Los productos se diluyeron en agua destilada con Inex-A® (Cosmocel, Nuevo León, México, alcohol graso etoxilado 20.2%) al 0.1% como adherente.

4.3 Bioensayos

4.3.1 Repelencia de aceites minerales sobre adultos de *D. citri*

La repelencia se evaluó con el método de cilindro (olfatómetro) propuesto por Schuster *et al.* (2009) con ligeras modificaciones. Para ello se construyó una arena experimental conformada de un vaso desechable de polipropileno (Cristal®, Bosco, México; de 250 mL), con tres orificios; dos laterales (Ø 4.0 cm) cubiertos por una malla fina para permitir la ventilación y uno frontal medio (Ø 0.8 cm) con un tapón extraíble de caucho. La tapa del vaso se perforó para acoplar un vial de cristal de 5 mL con agua corriente, en el cual se sumergió y sujetó el pecíolo de una hoja de naranja *C. sinensis* cv. 'Valencia' previamente inmersa por 5 s en la sustancia de prueba. El vial y hoja se

encerraron acoplado la tapa con el vaso en posición invertida. Por último, por el orificio lateral (\varnothing 1.0 cm) tapado con un corcho, se introdujeron 20 adultos de 3 a 6 días de emergidos y 2 h en ayuno previo. Las arenas experimentales se mantuvieron a 25 ± 5 °C, HR $60\pm 5\%$ y fotoperiodo de 12:12 h luz:oscuridad.

La repelencia se midió por la diferencia entre insectos posados y no posados en la hoja testigo comparada con las hojas tratadas a las 4, 5, 6 y 24 h después de la introducción de los insectos, y se expresó en porcentaje (20 = 100% en cada repetición). El porcentaje de repelencia aceptable para el testigo fue $\leq 12\%$.

Para cada producto primero se realizó un bioensayo preliminar para determinar la ventana de respuesta biológica donde se utilizaron concentraciones logarítmicas en un rango de 0.00001 a 10%, con el fin de detectar las dosis que ocasionaban repelencia de entre 10 y 90%. Después con los resultados obtenidos se seleccionaron siete concentraciones intermedias para realizar el bioensayo completo. Para cada producto se evaluaron siete concentraciones logarítmicas en un rango de 0.00001 a 3.5% (0.0001 a $35 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) más un testigo con base de agua más Inex-A[®]. Para cada concentración y repetición se trataron 20 adultos del PAC y se realizaron cinco repeticiones en tiempos diferentes. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los datos de repelencia se corrigieron por medio de la ecuación de Abbott (1925) y se sometieron a un análisis de varianza (SAS, 2004), prueba de separación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) y análisis Probit para obtener los valores de la línea de regresión y concentración letal media (CL_{50}) y la concentración repelente media CR_{50} . También se determinó el índice de repelencia (IR) propuesto por Lin *et al.* (1990), para comparar los efectos de las dosis, este índice se calculó con la fórmula $IR = 2G / (G + P)$, donde G= porcentaje de insectos posados en el tratamiento y P= porcentaje de insectos posados en el testigo. Los índices se clasificaron como $IR=1$ concentración neutra, $IR < 1$ concentración repelente e $IR > 1$ concentración atrayente.



Figura 3. Arena experimental empleada en pruebas de repelencia de adultos de *Diaphorina citri* (Imagen Valdez y Ortega, 2015).

4.3.2 Toxicidad

4.3.2.1 Toxicidad en adultos

La toxicidad se evaluó mediante el método tópico descrito por Tiwari *et al.* (2011) con ligeras modificaciones. Consistió en mantener a adultos de PAC en ayuno durante 2 h previas a la evaluación, anestésarlos con CO₂ y depositar 0.2 µL de una concentración conocida del aceite diluido en agua, en el pronoto de cada adulto. El aceite 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 (Ø 4 cm), 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 arenas experimentales se mantuvieron en una cámara de cría a 25±5 °C, HR 60±5% y fotoperiodo de 12:12 h luz:oscuridad. La mortalidad se registró a las 24 h después de la aplicación utilizando un microscopio estereoscópico; el insecto se consideró muerto si no presentaba movimiento al estimularlo con una aguja de disección.

4.3.2.2 Toxicidad en ninfas

Para llevar a cabo los bioensayos con ninfas se siguió la misma metodología que para toxicidad en adultos. Se seleccionaron ninfas de quinto ínstar ninfal con ayuda de un microscopio estereoscopio (LEICA EZ4), enseguida con la ayuda de un pincel de pelos de camello (000) se transfirieron 20 ninfas, de brotes provenientes de la cría, a una caja 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. Se dejaron en reposo por una hora para después aplicar cada uno de los tratamientos. Éstos se aplicaron con una jeringa manual de repetición para cromatografía marca Hamilton® de 10 µL, acoplada a un microaplicador Hamilton® modelo PB-600. Las arenas experimentales se mantuvieron en una cámara de cría a 25±5 °C, HR 60±5% y fotoperiodo de 12:12 h luz: oscuridad. La mortalidad se registró a las 24 h después de la aplicación utilizando un microscopio estereoscópico; el insecto se consideró muerto si no presentaba movimiento al estimularlo con una aguja de disección.

4.3.2.3 Toxicidad en huevos

Para realizar la prueba se utilizaron plantas sanas de naranja de tres años de edad con brotes vegetativos jóvenes. En cada planta se seleccionaron dos brotes que se aislaron individualmente en un recipiente cilíndrico de plástico liso transparente (150 mL de capacidad) con un orificio lateral (Ø 4 cm) cubierto con tela de organza para permitir la ventilación. Con ayuda de un aspirador bucal, y por otro orificio lateral (Ø 0.8 cm) se introdujeron 20 psílicos adultos en una proporción de machos y hembras de 1:1, de 3 a 6 días de emergidos y con 2 h en ayuno previo. Después de un periodo de alimentación-oviposición de 48 h, los adultos se retiraron y se contabilizó el número de huevos desovados; esto último se hizo bajo un microscopio estereoscópico. Enseguida se llevó a cabo el tratamiento mediante inmersión del brote durante 5 segundos en la concentración prueba de cada aceite y se dejaron secar a temperatura ambiente. Las arenas experimentales se mantuvieron en una cámara de cría a 25±5 °C, HR 60±5% y fotoperiodo de 12:12 h luz: oscuridad. Transcurridas 72 h postratamiento se procedió contabilizar el número de huevos sin eclosionar en cada uno de los tratamientos. El registro culminó a los siete días postratamiento.

4.3.3 Inhibición de la oviposición de *D. citri*

Para llevar a cabo este bioensayo se utilizó la misma arena experimental utilizada en los ensayos de repelencia (Figura 3) con ligeras modificaciones. En lugar de una hoja se seleccionaron brotes vegetativos de naranja *C. sinensis* cv. 'Valencia' mismos que se sumergieron por 5 s en la sustancia de prueba y dejaron secar a temperatura ambiente durante 30 min. El vial y brote se encerraron acoplando la tapa con el vaso en posición invertida. Por último, por el orificio lateral (\varnothing 0.8 cm), tapado con un corcho, se introdujeron 20 adultos de 3 a 6 días de emergidos y 2 h en ayuno previo. Las arenas experimentales se mantuvieron a 25 ± 5 °C, HR $60\pm 5\%$ y fotoperiodo de 12:12 h luz oscuridad.

Finalmente, transcurridas las 48 h después de la introducción de los psílicos se realizaron las evaluaciones por medio del conteo de número de huevos desovados en cada uno de los tratamientos con la ayuda de un microscopio estereoscópico. El número de huevos desovados en el testigo se tomó como un 100%.

4.3.3.1 Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar. Para todos los bioensayos, primero se realizó un bioensayo preliminar para determinar la ventana de respuesta biológica donde se utilizaron siete dosis logarítmicas en un rango de 0.00001 a 10%, con el fin de detectar las dosis que ocasionaban una mortalidad, repelencia, inhibición de entre 10 y 90%. Después con los resultados obtenidos se seleccionaron siete dosis intermedias para establecer el bioensayo completo. Siempre se incluyó un testigo con base en agua + adherente (Inex-A al 0.1%) y se realizaron cinco repeticiones. Para la prueba de toxicidad en ninfas se utilizó como solvente acetona grado técnico (Reasol[®]) tanto en el tratamiento como en el testigo. Los datos de mortalidad, repelencia e inhibición se corrigieron por medio de la ecuación de Abbott (1925) y se sometieron a un análisis de varianza (SAS, 2004), prueba de separación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) y análisis Probit para obtener los valores de la línea de regresión y la concentración letal, repelente e inhibitoria media CL_{50} , CR_{50} , CIO_{50} , que se expresaron en $mg \cdot mL^{-1}$.

4.3.4 Alteraciones en el integumento causadas por los aceites minerales en ninfas de *D. citri*

Para determinar si los aceites causan alguna alteración morfológica en el integumento, se seleccionaron 100 ninfas del quinto instar de *D. citri* y con ayuda de un pincel de pelo de camello (000) se transfirieron de brotes de naranja cv. Valencia, en grupos de 20, al envés de un disco de hoja de naranja cv. Valencia dispuesto sobre a una caja Petri (\varnothing 4 cm) que contenía una base de agar-agar (1.5%) (Merck®) de 3 mL de espesor y cerrada con tapa de malla de nylon para permitir aireación. Enseguida las ninfas se trataron con concentraciones al 1% de cada uno de los aceites. Los aceites se aplicaron con una jeringa manual de repetición para cromatografía marca Hamilton® de 10 μ L, acoplada a un microaplicador Hamilton® modelo PB-600. Para cada aceite se trataron 100 individuos y como diluyente se empleó acetona grado técnico (Reasol®). Las arenas experimentales se mantuvieron en condiciones de laboratorio a 25 ± 5 °C, HR $60\pm 5\%$ y fotoperiodo de 12:12 h luz:oscuridad. Transcurridas 24 horas se seleccionaron ninfas con síntomas visibles como arqueamiento del cuerpo, desecación, ruptura del integumento, para documentar fotográficamente los hallazgos. Para ello se empleó una cámara Canon® EOS montada en un microscopio Carl Zeiss SteREO Discovery V.20. El balance de imágenes se realizó con en el programa GIMP 2.8.

Asimismo, para determinar el efecto de los aceites en el arreglo histológico del integumento se seleccionaron ninfas de *D. citri* que a la vista presentaban alguna alteración morfológica después de ser expuestas a los aceites. Para la conservación de los tejidos y células, los individuos se sumergieron en la solución fijadora de Dubosq Brasil durante 72 h. Una vez cumplido este tiempo, la muestra se lavó con alcohol a 80% en tres ocasiones en intervalos de dos horas, después se dejó reposar en alcohol a 90% durante dos horas y finalmente se sumergió en alcohol a 100% durante 24 h. Para desalcoholizar la muestra, se sumergió 24 h en benzoato de metilo que sirvió como intermediario entre los alcoholes y la parafina. Enseguida, la muestra se sacó del benzoato, para después conservarla en alcohol a 80 y 90% durante 24 h, en cada uno. Entre las 24 h siguientes se realizaron dos aplicaciones de eosina, en el último cambio se lavó con alcohol a 100% durante 10 segundos y se agregó el benzoato de metilo donde permanecieron durante 24 h, mismo que fue reemplazado. Al termino del tiempo, la muestra se enjuagó con benzol para eliminar el alcohol.

Después se mezcló benzol con parafina líquida en proporciones 1:1. De cada tratamiento se seleccionaron ejemplares representativos, mismos que se incluyeron en la mezcla por 72 h a 60 °C. Una vez que se cumplió el período la muestra se embebió en la parafina y se realizaron cortes histológicas.

Para fotografiar el integumento de las ninfas se utilizó un microscopio compuesto ROSSBACH® a 40X. Se realizó el balance de imágenes en el programa GIMP 2.8.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Repelencia de aceites minerales en adultos de *D. citri*

Los cuatro aceites minerales evaluados mostraron efecto repelente positivo en todas las horas de evaluación; dicha actividad se relacionó positivamente con la concentración. La repelencia promedio más alta ($\geq 90\%$) para todos los aceites se obtuvo al aplicar la concentración de 35 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ y el efecto se mantuvo estable ($P \leq 0.05$) y en algunos casos se acentuó a través del tiempo (Cuadro 1). No se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los diferentes tiempos para cada producto a la concentración alta, pero sí entre concentraciones y producto. Para lograr un efecto repelente significativo ($> 50\%$) con Akaroil, Anasef-T, y Stylet- Oil, se requiere aplicar concentraciones superiores a 6.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, mientras que el mismo efecto con Saf-T-Side se logra con 0.6 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Los valores de la concentración repelente media (CR_{50}) en los cuatro aceites oscilaron entre 0.14 y 3.78 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Destacó Saf-T-Side, con la menor $\text{CR}_{50} = 0.24 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ en promedio en los cuatro tiempos seguido por Anasef-T (1.61 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), Akaroil (2.90 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) y Stylet-Oil (3.34 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) (Cuadro 1). A las 24 h después de la aplicación se logró la mayor actividad repente a nivel de CR_{50} en Saf-T-Side (0.4 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a las 24 h) y Anasef-T (1.33 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a las 24 h) (Cuadro 1). En general la actividad repelente se mantuvo hasta por 24 h, y se acentuó con el paso del tiempo.

El valor de la pendiente para todos los tratamientos osciló entre 0.53 ± 0.09 y 0.96 ± 0.16 , lo cual indica que la población no responde de forma uniforme a la selección por los productos evaluados (Cuadro 1).

El efecto repelente positivo de cada uno de los productos fue similar y se confirmó con los valores de los $IR < 1$ estimados al aplicar concentraciones mayores de $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ de cada uno de los aceites, acción que se mantuvo hasta las 24 h postaplicación (Cuadro 1). Sin embargo, la actividad de los aceites disminuyó a partir de concentraciones por debajo de los $0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, pasando de una categoría de neutral a atrayente (Cuadro 1).

El alto nivel de repelencia obtenido por los productos evaluados se atribuye a la persistencia; característica relacionada con la viscosidad y la baja volatilidad de los aceites (Pearce *et al.*, 1942; Davidson *et al.*, 1991). El grado de viscosidad y densidad de los aceites los hace más pesados y por ello son retenidos por más tiempo sobre la hoja, de modo que las sustancias repelentes se liberan gradualmente, retrasando o evitando por más tiempo el arribo de los insectos a la planta tratada (Davidson *et al.*, 1991). Algo similar encontraron Ouyang *et al.* (2013) quienes reportan un porcentaje de repelencia del 59% a las 48 h, al aplicar Caltex® al 0.67%, y en otros tratamientos con diferentes aceites una repelencia menor al 40%, y Yang *et al.* (2013) obtuvieron un porcentaje de repelencia mayor al 90% al aplicar Enspray 99, a una concentración de 2%. Leong *et al.* (2012), obtuvieron un 75-80% de repelencia en condiciones de campo al aplicar D-C-Tron® Plus al 0.35%. Dichos resultados se asemejan a los obtenidos en el caso de Stylet-Oil® a dicha concentración. Los resultados mencionados anteriormente difieren un poco de los obtenidos por Poerwanto *et al.* (2012) al aplicar Sunspray UltraFine® y Enspray 99® al 2%; ellos obtuvieron repelencia del 61 y 57%, respectivamente en condiciones de laboratorio.

El efecto repelente de los aceites minerales podría estar relacionado con la liberación de volátiles a través de la descomposición de los mismos, bloqueo de liberación de volátiles del hospedero al formar una película fina sobre la superficie del follaje, y/o enmascaramiento de volátiles, lo cual dificulta el reconocimiento del huésped por el insecto fitófago (Ouyang *et al.*, 2008; Poerwanto *et al.*, 2012). Por consiguiente, la combinación de dosis y cobertura adecuadas podría propiciar niveles de repelencia óptimos.

El que los aceites presenten actividad repelente sobre adultos de PAC reduce el riesgo de diseminación del HLB. A pesar de que en esta investigación se determinó que los aceites cuentan con efecto tóxico bajo a las concentraciones evaluadas sobre PAC. Se sugiere que se realicen estudios profundos en condiciones de campo, con el fin de obtener información sobre la efectividad de los aceites al interaccionar con los diversos factores presentes en el campo, además de realizar evaluaciones con los demás estados de desarrollo del PAC. En la actualidad los aceites minerales se aplican en campo solos o como coadyuvantes de insecticidas químicos para el manejo del PAC, en un esquema de rotación de insecticidas, dentro de las áreas regionales de control (ARCOs) desde 2013 (Cortez-Mondaca *et al.*, 2013), con resultados poco favorables (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012; Pérez-Zarate *et al.*, 2016). Al parecer la baja efectividad de los aceites estuvo relacionada entre otros aspectos, como la aplicación inoportuna de dosis inadecuadas, velocidad de aplicación, y condiciones prevalecientes.

Cuadro 1. Repelencia (%) de adultos de *Diaphorina citri* a las 4, 5, 6 y 24 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.

Concentración mg·mL ⁻¹	AKAROIL											
	Rep. (%) ¹	IR ²	CL ³	Rep. (%)	IR	CL	Rep. (%)	IR	CL	Rep. (%)	IR	CL
	4 h			5 h			6 h			24 h		
	Tiempo											
35.00	93.33 a ⁵	0.13± 0.07	R	95.00 a	0.10± 0.00	R	91.67 a	0.16± 0.07	R	96.67 a	0.07± 0.07	R
10.00	75.00 b	0.42± 0.13	R	78.33 b	0.38± 0.07	R	83.33 a	0.29± 0.07	R	81.67 b	0.32± 0.20	R
6.00	50.00 c	0.69± 0.13	R	53.30 c	0.67± 0.07	R	58.33 b	0.60± 0.15	R	61.67 c	0.58±0.07	R
2.00	33.33 d	0.82± 0.07	R	35.00 d	0.82± 0.00	R	33.33 c	0.81± 0.07	R	46.67 d	0.72± 0.07	R
1.00	28.33 de	0.86± 0.07	R	30.00 d	0.86± 0.13	R	30.00 cd	0.83± 0.13	R	33.33 e	0.82± 0.15	R
0.10	16.67 ef	0.93± 0.07	N	18.33 e	0.93± 0.07	N	18.33 de	0.91± 0.07	R	21.67 f	0.90± 0.07	R
0.01	8.33 f	0.98± 0.13	A	8.33 f	0.99± 0.07	A	10.00 ef	0.96± 0.13	A	11.67 fg	0.96± 0.07	A
Testigo	5.00 f	-	-	6.67 f	-	-	1.67 f	-	-	5.00 g	-	-
Pr>X ²	<.0001			<.0001			<.0001			<.0001		
X ²	29.92			36.98			23.35			37.09		
CR ₅₀	3.78(1.50-11.33) ⁴			3.68(1.68-8.90)			2.24 (0.62-8.90)			1.92 (0.73-5.02)		
b±EE	0.89±0.16			0.96±0.16			0.79±0.16			0.83±0.14		
ANASEF-T												

35.00	96.67	0.07±	R	96.67	0.07±	R	95.00	0.10±	R	96.67	0.07±	R
	a	0.07		a	0.07		a	0.13		a	0.07	
10.00	85.00	0.27±	R	85.00	0.27±	R	83.33	0.30±	R	81.67	0.32±	R
	b	0.00		b	0.00		a	0.07		b	0.07	
6.00	66.67	0.52±	R	66.67	0.52±	R	63.33	0.56±	R	65.00	0.53±	R
	c	0.15		c	0.07		b	0.07		c	0.13	
2.00	51.67	0.67±	R	50.00	0.69±	R	46.67	0.73±	R	45.00	0.73±	R
	d	0.07		d	0.13		d	0.07		d	0.13	
1.00	38.33	0.79±	R	36.67	0.80±	R	33.33	0.83±	R	33.33	0.82±	R
	e	0.07		e	0.07		cd	0.15		e	0.07	
0.35	31.67	0.84±	R	30.00	0.85±	R	28.33	0.87±	A	26.67	0.86±	R
	e	0.07		e	0.00		d	0.15		e	0.07	
0.10	30.00	0.85±	R	28.33	0.86±	R	28.33	0.87±	A	26.67	0.86±	R
	e	0.13		e	0.07		d	0.15		e	0.07	
Testigo	5.00 f	-	-	5.00 f	-	-	6.67	-	-	3.33 f	-	-
							e					
Pr>X ²	<.0001			<.0001			<.0001			0.0011		
X ²	36.57			38.83			31.88			10.58		
CR ₅₀	1.46(0.62 – 3.18)			1.57(0.70 – 3.32)			2.11(0.89 – 5.17)			1.33 (0.05-18.05)		
b±EE	0.86 ± 0.14			0.89±0.14			0.88± 0.16			0.61±0.19		
SAF-T-SIDE												
35.00	91.67	0.16±	R	91.67	0.16±	R	95.00	0.10±	R	95.00	0.10±	R
	a	0.07		a	0.07		a	0.13		a	0.22	
10.00	83.33	0.30±	R	86.67	0.25±	R	90.00	0.19±	R	93.33	0.13±	R
	ab	0.07		ab	0.07		a	0.0		a	0.07	
1.00	70.00	0.49±	R	73.33	0.44±	R	75.00	0.41±	R	78.33	0.37±	R
	b	0.13		b	0.07		b	0.13		a	0.07	
0.60	50.00	0.70±	R	53.33	0.66±	R	53.33	0.65±	R	56.67	0.63±	R
	c	0.00		c	0.15		c	0.07		b	0.20	
0.20	41.67	0.77±	R	43.33	0.75±	R	46.67	0.71±	R	46.67	0.72±	R
	cd	0.15		cd	0.15		cd	0.20		b	0.20	
0.10	36.67	0.81±	A	38.33	0.79±	R	40.00	0.77±	R	41.67	0.76±	R
	cd	0.20		d	0.20		d	0.13		b	0.20	
0.01	35.00	0.82±	A	36.67	0.80±	R	36.67	0.79±	R	41.67	0.76±	R
	d	0.22		d	0.07		d	0.07		b	0.07	
Testigo	6.67 e	-	-	5.00 e	-	-	3.33	-	-	5.00	-	-
							e			c		
Pr>X ²	<.0001			<.0001			<.0001			<.0001		
X ²	36.90			34.92			33.95			24.69		
CR ₅₀	0.38(0.11-1.08)			0.25 (0.06-0.70)			0.18 (0.04-0.49)			0.14 (0.02-0.49)		
b±EE	0.53±0.09			0.54±0.09			0.58±0.10			0.58±0.12		
STYLET- OIL												
35.00	90.00	0.19±	R	91.67	0.16±	R	93.33	0.13±	R	91.67	0.16±	R
	a	0.13		a	0.15		a	0.07		a	0.07	
10.00	58.33	0.60±	R	61.67	0.58±	R	63.33	0.56±	R	61.67	0.58±	R
	b	0.07		b	0.07		b	0.07		b	0.07	
6.00	48.33	0.70±	R	48.33	0.70±	R	51.67	0.68±	R	53.33	0.67±	R
	bc	0.07		c	0.07		c	0.07		bc	0.07	
2.00	41.67	0.75±	R	41.67	0.76±	R	43.33	0.76±	R	50.00	0.70±	R
	cd	0.07		c	0.07		c d	0.07		c d	0.13	
1.00	40.00	0.77±	R	38.33	0.79±	R	40.00	0.78±	R	41.67	0.77±	R
	cd	0.13		c	0.07		d	0.13		de	0.07	
0.35	36.67	0.79±	R	38.33	0.79±	R	36.67	0.81±	R	33.33	0.83±	R
	d	0.15		c	0.15		d	0.07		e	0.07	
0.10	16.67	0.93±	N	16.67	0.93±	A	16.67	0.94±	A	13.33	0.96±	A
	e	0.07		d	0.13		e	0.07		f	0.07	

Testigo	3.33 f	-	-	5.00 d	-	-	6.67 f	-	-	6.67 f	-	-
Pr>X ²	<.0001			<.0001			<.0001			<.0001		<.0001
X ²	25.98			24.79			32.59			43.41		
CR ₅₀	3.31 (1.32-10.84)			3.41 (1.34-11.64)			3.34(1.51-8.90)			3.32 (1.70-7.34)		
b±EE	0.69±0.13			0.73±0.15			0.79±0.14			0.82±0.12		

¹Porcentaje de repelencia; ²IR: índice de repelencia; ³ Clasificación: R: Repelente; N: Neutral; A=Atrayente; ⁴ Intervalos de confianza al 95%, b: pendiente de la línea de regresión, EE: error estándar, ⁵Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P≤ 0.05)

5.2 Toxicidad

5.2.1 Toxicidad en adultos

La mortalidad máxima obtenida por los cuatro aceites osciló entre el 18 y 38% a la concentración 35 mg·mL⁻¹. El producto Anasef-T causó la mayor toxicidad (38%) y Akaroil la más baja (18%) (Cuadro 2). El aumento en la toxicidad del aceite se relacionó con el aumento de la concentración. Aunque en ningún caso se obtuvo mortalidad total con la concentración más alta probada (35 mg·mL⁻¹), se detectaron diferencias significativas (P < 0.05) entre concentraciones (P < 0.05) (Cuadro 2). Dichos resultados se asemejan a los obtenidos por Childers y Rogers (2005), Qureshi *et al.* (2014) y Pérez-Zarate *et al.* (2016), quienes determinaron que los aceites no controlan adecuadamente a adultos de *D. citri* en condiciones de campo. Sin embargo, se contraponen a los resultados de Ruiz-Galván *et al.* (2015) quienes obtuvieron mortalidad superior a 90% al aplicar Saf-T-Side al 0.8% y Cabrera-Cabrera *et al.* (2010) quienes obtuvieron mortalidades > 70% a aplicar Sigatoka y Rocio Spray al 0.5% en condiciones de laboratorio y Najjar-Rodríguez *et al.* (2008) obtuvieron un efecto tóxico cercano a 100% en pulgones, al aplicar volúmenes y concentraciones altas de aceites. El volumen de aplicación varía en función del método de aplicación seleccionado y este puede influir en los resultados obtenidos. En esta investigación se realizó aplicación tópica. Este método asegura que una cantidad conocida del aceite entre en contacto directo con el cuerpo del insecto, y por tanto, si el aceite tiene efecto tóxico se obtendría como resultado una mortalidad alta. Sin embargo, Najjar-Rodríguez *et al.* (2008) mencionan que la toxicidad de los aceites se relaciona directamente con sus características lipofílicas, y al tener afinidad con las ceras del cuerpo del insecto se da una penetración rápida, entra en contacto con las células, órganos y se acumula en el tejido graso, ganglios nerviosos, para finalmente provocar la muerte en poco tiempo. La baja toxicidad ocasionada por los aceites en este estudio puede relacionarse con el bajo volumen de aplicación del aceite (0.2 µL/insecto). Dicho volumen no logró una cobertura total del cuerpo del insecto y por tanto la penetración fue mínima,

en cambio a concentraciones altas y volúmenes adecuados se podría lograr un cubrimiento cercano al 100%. Lo anterior coincide con Najjar-Rodríguez *et al.* (2008) quienes comentan que la reducción del tiempo de muerte y mortalidad del pulgón *Aphis gossypii* ocasionada por aceites derivados del petróleo estuvo ligada al aumento en el volumen en aplicación tópica y con el estado de desarrollo tratado. Sieburth *et al.* (1998) mencionan que los huevos y ninfas jóvenes de moscas blancas son más susceptibles que los adultos.

Cuadro 2. Mortalidad (%) de adultos de *Diaphorina citri* a las 24 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.

Concentración (mg·mL ⁻¹)	AKAROIL	ANASEF-T	SAF-T-SIDE	STYLET-OIL
	Mortalidad (%)			
35.0	18.0 a ¹	38.0 a	29.0 a	30.0 a
10.0	12.0 b	20.0 b	16.0 b	19.0 b
1.0	8.0 bc	13.0 bc	6.0 c	11.0 c
0.1	6.0 cd	11.0 cd	4.0 cd	10.0 c
0.01	6.0 cd	8.0 cde	4.0 cd	5.0 bc
0.001	3.0 de	6.0 cde	1.0 cd	0.0 e
0.0001	0.0 e	3.0 de	1.0 cd	1.0 ed
Testigo	0.0 e	1.0 e	0.0 d	0.0 e
	Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001
	X ²	25.22	23.59	46.25
	CL ₅₀	-	-	-
	b±EE	0.22±0.04	0.26±0.05	0.35±0.05

b: pendiente de la línea de regresión, EE: error estándar, ¹ Medias con distinta letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).

5.2.2 Toxicidad en ninfas

Los cuatro aceites minerales evaluados causaron efecto tóxico positivo a las 24 horas de evaluación; dicha actividad se relacionó positivamente con la concentración. Toxicidad total (=100%) para todos los aceites se obtuvo al aplicar la concentración de 35 mg·mL⁻¹, pero mortalidad significativa (>50%) se obtuvo a partir de los 6 mg·mL⁻¹ (Cuadro 3).

Las CL₅₀'s, para los cuatro aceites oscilaron entre 1.05 y 1.71 mg·mL⁻¹ y el mejor producto fue Stylet-Oil con una CL₅₀ de 1.05 mg·mL⁻¹ seguido por Anasef-T (1.24 mg·mL⁻¹), Akaroil (1.43 mg·mL⁻¹) y Saf-T-Side (1.71 mg·mL⁻¹) (Cuadro 3). Se obtuvo una respuesta homogénea la cual se determinó por el valor de la pendiente (b > 1) para tres de los cuatro aceites; Akaroil, Anasef-T y Saf-T-Side (0.92, 0.88 y 0.92, respectivamente), mientras que en Stylet-Oil fue de 0.78 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Mortalidad (%) de ninfas del quinto instar de *Diaphorina citri* a las 24 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.

Concentración (mg·mL ⁻¹)	AKAROIL	ANASEF-T	SAF-T-SIDE	STYLET-OIL
	Mortalidad(%)			
35.0	100.0 a ¹	100.0 a	100.0 a	100.0 a
10.0	95.0 a	96.0 a	91.0 b	92.0 b
6.0	53.0 b	55.0 b	53.0 c	53.0 c
2.0	48.0 b	49.0 b	43.0 d	48.0 c
1.0	31.0 c	35.0 c	29.0 e	41.0 d
0.1	19.0 d	22.0 d	20.0 f	32.0 e
0.01	8.0 e	10.0 e	8.0 g	10.0 f
Testigo	1.0 f	2.0 e	2.0 g	2.0 g
Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
X ²	15.74	16.05	16.32	15.70
CL ₅₀	1.43(0.22-6.99)	1.24(0.18-6.03)	1.71(0.31-8.21)	1.05(0.12-5.54)
b±EE	0.92±0.23	0.88±0.22	0.92±0.23	0.78±0.20

b: pendiente de la línea de regresión, EE: error estándar. ¹Medias con distinta letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05)

Los resultados de esta investigación coinciden con los obtenidos por Stansly *et al.* (2011), Leong *et al.* (2012) y Quereshi *et al.* (2014) quienes obtuvieron niveles de control mayores a 50% al aplicar concentraciones de 0.35 y 2% en campo (Rae *et al.*, 1997; Ruiz-Galván *et al.*, 2015). Sin embargo, y aunque varios autores comentan que se logran mejores resultados cuando los aceites de petróleo se dirigen a los primeros instares ninfales y se aplican vía aspersion, los aceites ejercieron buen control también para ninfas del quinto instar (Qureshi *et al.*, 2010; Stansly *et al.*, 2014; Orozco-Santos *et al.*, 2016). Por tanto, con la investigación realizada se pudo corroborar la eficacia de los aceites para el control de ninfas de *D. citri*, por lo que puede sugerirse la utilización de aceites minerales con el objetivo de controlar ninfas de cualquier instar.

5.2.3 Toxicidad en huevos

Los cuatro aceites ejercieron efecto tóxico positivo sobre huevos de *D. citri*, y ocasionaron una mortalidad >80% a la dosis de 10 mg·mL⁻¹ (Cuadro 4). Las CL₅₀ obtenidas a los 7 días postratamiento oscilaron entre 0.004 y 0.1 mg·mL⁻¹, y fueron similares en el caso de Anasef-T y Saf-T-Side (0.1 mg·mL⁻¹) (Cuadro 4). Se observó también una reducción de porcentaje de mortalidad de huevos al paso de los días, lo cual se debe al tiempo de incubación natural. El valor de la pendiente en todos los casos fue menor a la unidad, lo cual indica respuesta no homogénea de los huevos. Los aceites que sobresalieron a la dosis alta fueron Stylet-Oil, seguido por Saf-T-

Side al ocasionar un 96.39 y 91.30% respectivamente de mortalidad de huevos a los 7 días postaplicación. Se observaron diferencias significativas entre dosis en cada aceite ($P < 0.05$).

Los resultados de la presente investigación difieren de los obtenidos por Ruiz-Galván *et al.* (2015) quienes encontraron un menor porcentaje toxicidad del 25% en huevos a los 6 días postratamiento al aplicar Saf-T-Side al 1%, y mencionan que los huevos que no eclosionaron mostraron síntomas de ruptura, deshidratación y obscurecimiento.

El efecto tóxico de los aceites sobre huevos de insecto se debe principalmente a la formación de una película fina sobre la superficie del huevo, y ocasiona la muerte del huevo por asfixia (Stadler y Buteler, 2009). Rae *et al.* (1997) mencionan que la población de *D. citri* se reduce en los arboles de cítricos que son tratados con aceites previo a la emergencia de los adultos, lo cual podría atribuirse a los efectos tóxicos de los aceites sobre los huevos.

Con este estudio se demuestra que los aceites poseen actividad tóxica sobre huevos del PAC, por lo que es viable recomendarlos para el control del PAC en estados de desarrollo temprano. Importante mencionar que las ninfas de primer ínstar en todos los tratamientos murieron posterior a la emergencia, en algunos casos se presentó el fenómeno de inhibición de la emergencia, pues las ninfas no lograron salir por completo del huevo.

Cuadro 4. Mortalidad (%) de huevos de *Diaphorina citri* a los 5, 6 y 7 días después de la aplicación de aceites minerales.

Concentración mg·mL ⁻¹	AKAROIL		
	5 días	6 días	7 días
	Mortalidad de huevos (%)	Mortalidad de huevos (%)	Mortalidad de huevos (%)
10	91.96 a ¹	89.50 a	86.67 a
1	77.28 b	75.66 b	75.07 ab
0.1	71.37 b	66.37 bc	62.35 bc
0.035	65.24 bc	61.13 cd	55.48 cd
0.010	55.01 cd	52.33 de	51.60 cd
0.001	49.11 d	45.50 e	44.80 d
0.00035	17.39 e	15.13 f	14.78 e
Testigo	15.30 e	9.69 f	8.60 e
Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001
X ²	22.54	28.99	29.16
CR ₅₀	0.025(0.003-0.19)	0.026(0.004-0.15)	0.033(0.006-0.21)
b±EE	0.53±0.12	0.48±0.09	0.45±0.08
	ANASEF-T		
10	84.47 a	82.25 a	81.25 a

1	82.87 a	80.64 a	80.43 a
0.1	74.53 ab	70.83 ab	70.05 ab
0.035	67.69 ab	63.79 ab	63.00 ab
0.010	59.07 b	52.36 bc	51.44 bc
0.0035	34.61c	31.63 cd	30.99 cd
0.001	34.17 c	30.75 cd	30.28 cd
Testigo	14.83 c	11.46 d	10.03 d
Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001
X ₂	26.80	33.34	32.77
CR ₅₀	0.02(0.003-0.08)	0.03(0.006-0.11)	0.01(0.009-0.015)
b±EE	0.45±0.09	0.44±0.08	0.43±0.08
SAF-T-SIDE			
100	92.50 a	91.50 a	91.30 a
10	89.75 ab	85.35 ab	84.86 a
1	74.01 bc	69.94 bc	69.13 b
0.1	71.53 cd	67.68 cd	67.11 b
0.01	65.34 cd	62.11 cd	60.37 bc
0.0035	55.90 d	52.68 d	50.11 c
0.0010	38.88 e	35.72 e	33.21 d
Testigo	14.81 f	11.62 f	8.71 e
Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001
X ²	56.06	56.25	60.33
CR ₅₀	0.008(0.001-0.03)	0.01(0.002-0.05)	0.01(0.002-0.05)
b±EE	0.34±0.04	0.32±0.04	0.32±0.04
STYLET-OIL			
10	97.30 a	96.59 a	96.39 a
1	83.02 ab	80.02 ab	78.71 b
0.1	77.54 bc	72.85 bc	72.03 bc
0.01	67.03 bcd	62.63 cd	61.96 cd
0.0035	65.09 cd	59.95 cd	58.90 cd
0.001	53.89 de	49.42 de	48.42 d
0.00035	36.82 e	33.15 e	31.53 e
Testigo	14.27 f	8.60 f	7.16 f
Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001
X ²	54.71	60.07	55.04
CR ₅₀	0.003(0.0005-0.008)	0.003(0.0008-0.01)	0.004(0.0007-0.01)
b±EE	0.44±0.06	0.43±0.05	0.42±0.06

b: pendiente de la línea de regresión, EE: error estándar. ¹Medias con distinta letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05)

5.3 Inhibición de la oviposición de *D. citri*

Los cuatro aceites ocasionaron una inhibición de la oviposición positiva. A la concentración de 1 mg·mL⁻¹ se observó una reducción de la oviposición ≥93.63%, siendo similar el comportamiento en los cuatro aceites evaluados a la dosis alta (1 mg·mL⁻¹) (P<0.05) (Cuadro 5). La concentración inhibitoria media (IOC₅₀) en los cuatro productos evaluados oscilo entre 0.0002 y 0.003 mg·mL⁻¹ (Cuadro 5). Resultados similares obtuvieron Leong *et al.* (2012) con una reducción de ovoposición mayor al 70% al aplicar D-C Tron® Plus al 0.35%, y mencionan que dicho efecto se debe a la disuasión de la ovoposición.

La inhibición de la oviposición se relaciona con la formación de una fina película sobre los tejidos de las plantas después de la aplicación, lo cual interfiere con la liberación de volátiles liberados por las plantas, dificultando el reconocimiento por los insectos fitófagos (Mensah *et al.*, 2005; Ouyang *et al.*, 2008) así como también por acción directa de los volátiles liberados por la descomposición de los aceites al ejercer acción repelente o enmascarar a los volátiles producidos por la plantas, además de la inhabilitación de sitios de alimentación y ovoposición (Rae *et al.*, 1997 Nguyen *et al.*, 2007; Ouyang *et al.*, 2008)

Cuadro 5. Inhibición de oviposición de *Diaphorina citri* a las 48 h después de la aplicación de cuatro aceites minerales.

Concentración (mg·mL ⁻¹)	AKAROIL	ANASEF-T	SAF-T-SIDE	STYLET-OIL
	Mortalidad (%)			
1.00	93.63 a ¹	94.67 a	94.67 a	96.08 a
0.35	77.71 ab	-	-	-
0.1	73.89 bc	90.00 a	74.00 b	77.78 b
0.035	63.69 bcd	-	68.67 b	69.93 b
0.01	58.60 cd	84.67 ab	67.33 b	67.32 cb
0.0035	-	75.33 bc	50.00 c	-
0.001	52.23 de	66.00 c	41.33 c	49.67 cd
0.00035	-	-	25.33 d	-
0.0001	36.31e	48.67 d	-	35.29 de
0.000035	-	28.67 e	-	-
0.00001	-	-	-	31.37 e
Testigo	0.00 f	0.00 f	0.00 e	0.00 f
Pr>X ²	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
X ²	26.62	39.89	36.48	39.34
IOC ₅₀	0.001(0.0002-0.004)	0.0002(0.00005-0.0005)	0.003(0.001-0.007)	0.0006(0.0001-0.002)
b±EE	0.36±0.07	0.50±0.08	0.57±0.09	0.38±0.06

b: pendiente de la línea de regresión, EE: error estándar. ¹Medias con distinta letra en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05)

5.4 Alteraciones en el integumento causadas por los aceites minerales en ninfas de *D. citri*.

Los cuatro aceites evaluados afectaron adversamente la integridad de las ninfas tratadas. En todos los casos (Akaroil, Anasef-T, Saf-T-Side y Stylet-Oil) y en comparación con el testigo, se observó una notoria reducción del espacio interno (celoma) del cuerpo de la ninfa, degradación celular y compactación de órganos internos (Figura 4 A, B y C).

La aplicación de Akaroil provocó un arqueamiento del cuerpo (Figura 5 B) acompañado de una fuerte degradación y compactación de órganos internos (Figura 5 C y E), además de una expansión

y separación de la cutícula (Figura 5 E). El Anasef-T y Stylet-Oil, produjeron también degradación y compactación de órganos internos, pero estas fueron más marcadas que en Akaroil, además de deshidratación, lo que propició un cambio de aspecto de la cutícula del insecto (Figura 6 A B y C, 8 A y B). En el caso de Saf-T-side, se presentó deshidratación del insecto y una compactación menor (Figura 7 B y C).

Los resultados en este estudio coinciden con lo reportado por Ong, (1926) y Taverner *et al.* (1998) quienes anotan que las alteraciones internas de los especímenes causadas por los tratamientos aplicados pueden ser ocasionadas por la entrada de los aceites a través de la cutícula y aberturas naturales como las tráqueas. Después del acceso, los aceites se desplazan hacia la hemolinfa y se distribuyen en todo el cuerpo, para después alojarse en tejidos grasos y otras partes internas (Roy *et al.*, 1943). Al parecer la degradación celular interna de órganos se origina cuando los aceites entran en contacto con los lípidos de la membrana celular lo cual altera su permeabilidad y/o solubilidad (lisis o disrupción celular) (Ong, 1926; Van Overbeek y Blondeau, 1954). Wigglesworth (1945), menciona que los aceites disuelven la capa lipóide de la cutícula, lo cual ocasiona la deshidratación.

Como fue evidente en este estudio la intensidad del daño fue variable en función del aceite aplicado. En Anasef-T la degradación y compactación de órganos internos fue más pronunciada respecto del efecto de los otros aceites. Esta diferenciación podría relacionarse con el contenido de emulsionantes en las formulaciones de los cuatro aceites evaluados, y su interacción de todos los componentes de la formulación como reportaron Najjar-Rodríguez *et al.* (2008), en pruebas *in vitro* con células de *Drosophila*, pues observaron que al aplicar aceites sin emulsionante se da una penetración a través de la membrana celular y se acumula en el citoplasma, lo que causa la deshidratación de las células en poco tiempo. En cambio, cuando se aplicó el emulsionante solo, se observó que la membrana celular se desintegra por completo y se da la pérdida del contenido citoplasmático.

En este estudio no fue posible observar alteraciones de la cutícula, debido a que los insectos morían en un lapso de tiempo corto. Aunque la penetración fue rápida, la cutícula no sufrió alteraciones evidentes, por lo que en estudios próximos se estudiarán diferentes dosis subletales con el fin de obtener resultados contundentes sobre el efecto de aceites minerales en el integumento del insecto.

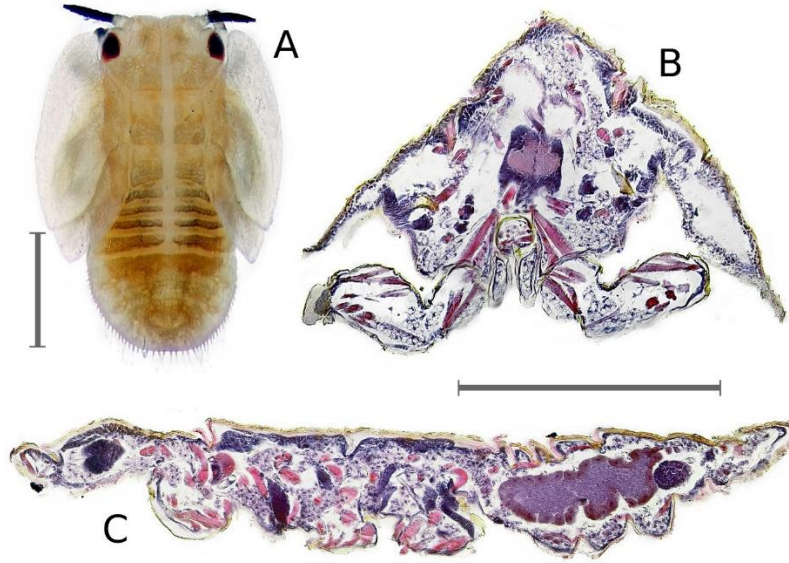


Figura 4. Testigo con aplicación de acetona grado técnico A) Especimen completo de ninfa de quinto ínstar de *Diaphorina citri*, B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μ m).

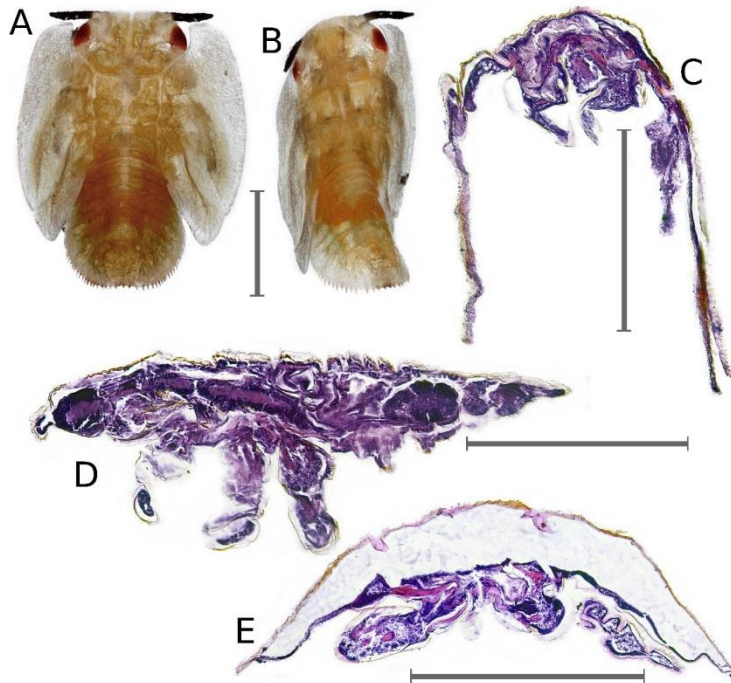


Figura 5. Tratamiento Akaroil (1%). A y B) Especimen completo de ninfa de quinto ínstar de *Diaphorina citri*, C y E) Corte transversal D) Corte longitudinal. (Escala 500 μ m).

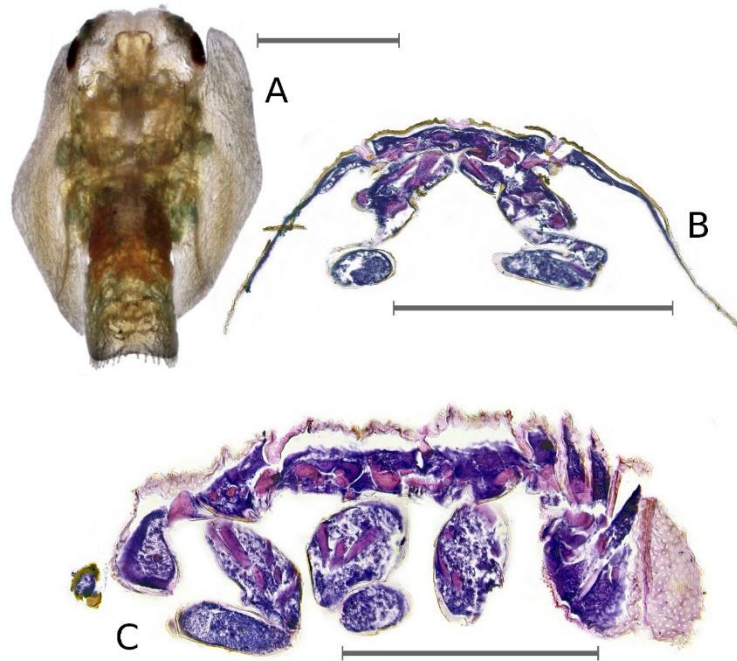


Figura 6. Tratamiento Anasef-T (1%). A) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de *Diaphorina citri*, B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μ m).

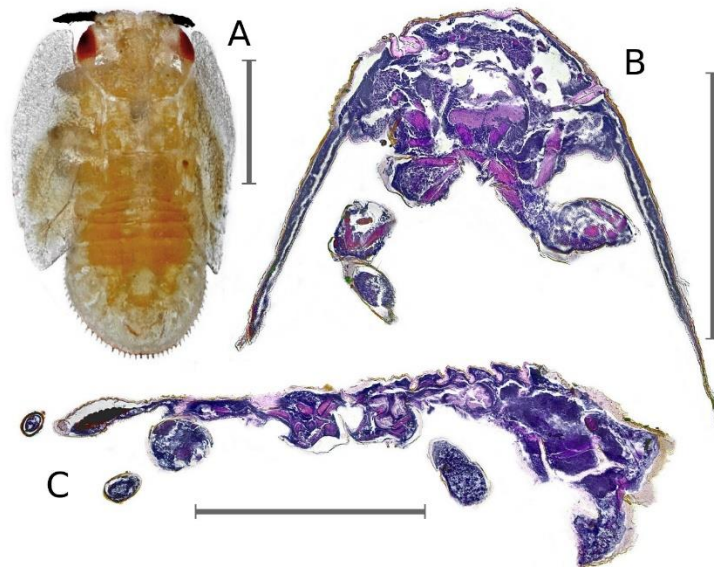


Figura 7. Tratamiento Saf-T-Side (1%). A) Espécimen completo de ninfa de quinto ínstar de *Diaphorina citri*, B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μ m).

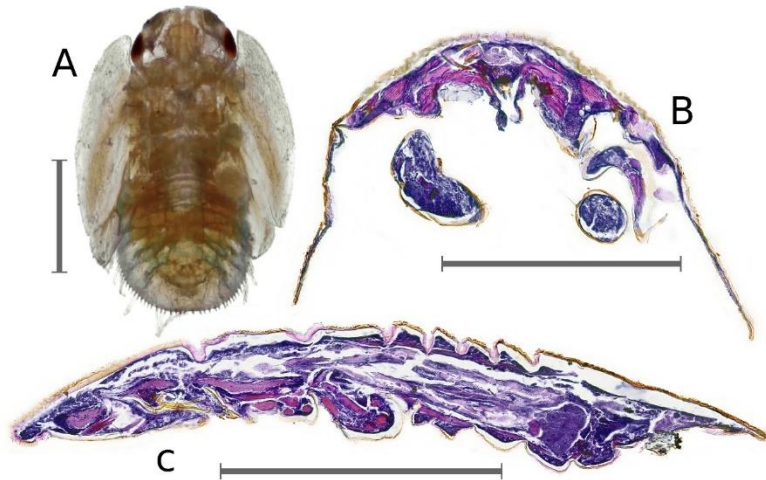


Figura 8. Tratamiento Stylet-Oil (1%). A) Especimen completo de ninfa de quinto ínstar de *Diaphorina citri*, B) Corte transversal C) Corte longitudinal. (Escala 500 μm).

6. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que los aceites minerales y/o parafínicos tienen la capacidad de repeler a adultos, no tienen efecto tóxico considerable sobre estos, en cambio sobre ninfas y huevos se obtuvieron efectos de toxicidad considerable, además ejercen actividad inhibitoria de la oviposición y causan alteraciones internas de los órganos, cuando se aplican sobre ninfas. El efecto tóxico más alto a una concentración de $35 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ fue de 38% cuando se aplicó Anasef-T. El efecto repelente tuvo una relación positiva al aumento de la concentración. Las concentraciones de $35 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ en todos los productos evaluados consiguieron una repelencia $\geq 90\%$. En cambio, en ninfas ocasionaron toxicidad de 100%. En huevo, dosis de $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ fueron suficientes para inhibir hasta en 90% la oviposición. Los cuatro aceites evaluados afectaron adversamente la integridad de las ninfas tratadas, en todos los casos y se observó degradación celular y compactación de órganos internos. Por tanto, se infiere que los aceites minerales representan una herramienta útil en el manejo integrado de *D. citri*, ya que son capaces de afectar más de un estado de desarrollo de la plaga. Se recomienda el uso de los aceites minerales para suprimir poblaciones del PAC en campo a una dosis al 3%.

7. LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18:165-267.
- Agnello, A. 2002. Petroleum-derived spray oils: chemistry, history, refining, and formulation., pp. 2-18 In G. A. C. Beattie, D. M. Watson, M. L. Stevens, D. J. Rae, and R. N. Spooner-Hart [eds.], *Spray Oils Beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management*. University of Western Sydney.
- Al Dabel, F., R. K. Mensah, and B. Frerot. 2008. Effects of nC24 and nC27 petroleum spray oils on oviposition and egg survival of *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera, Pyralidae) and *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera, Trichogrammatidae) adults on maize plants. *Int. J. Pest. Manage.* 54: 5-11.
- Aubert, B., and X. Y. Hua. 1990. Monitoring flight activity of *Diaphorina citri* on citrus and *Murraya* canopies, pp. 181-187. In: B. Aubert., S. Tontyaporn, and D. Buangsuwon, (Eds.), *Rehabilitation of Citrus Industry in the Asia Pacific Region*. Proceedings of the 4th Asia Pacific International Conference on Citriculture, Thailand.
- Augier, L., G. Gastaminza, M. Lizondo, M. Argañaraz, y E. Willink. 2006. Presencia de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el Noroeste Argentino (NOA). *Rev. Soc. Entomol. Argent.* 65 (3-4): 67-68.
- Aurambout, J. P., J. Finlay, J. Luck, and C. A. G. Beattie. 2009. A concept model to estimate the potential distribution of the Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) in Australia under climate change - A means for assessing biosecurity risk. *Ecol. Modelling.* 220: 2512-2524.
- Baeza, C. y L. Espíndola. 2009. Restricciones al uso de agroquímicos. Especial Manejo Fitosanitario de Huertos. *Revista Frutícola Copefrut S.A.* 3: 6-7.
- Banki, L. 1978. *Bioassay of Pesticides in the Laboratory: Research and Quality Control*. Akademiai Kiado, Hungary. 475 p.
- Bassanezi, R. B., and R. C. Bassanezi. 2008. An approach to model the impact of Huanglongbing on citrus yield. *Intl. Res. Conf. en Huanglongbing (IRCHLB) Proc.*, Orlando, FL. DEC. 2008.
- Beattie, G. A. C. 1990. Citrus petroleum spray oils. NSW Agriculture. Agfact H2. AE. 5. Rydalmere, NSW, Australia. 8 p.

- Beattie, G.A.C., and D. Smith. 1993. Citrus leafminer. Agfact HZ.AE.4, 2nd edition, Sydney: NSW Agriculture and Fisheries, Australia.
- Beattie, G. A. C., A. M. Liu, M. D. Watson, A. D. Clift, and I. Jiang. 1995. Evaluation of petroleum spray oils and polysaccharides for control of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). Aust. Entomol. 34: 349 - 353.
- Boina, D. R., W. L. Meyer, E. O. Onagbola, 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. 38:1250-58.
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. J. Plant Pathol. 88:7 - 37.
- Bové, J. M. 2012. Huanglongbing and the future of citrus in São Paulo State, Brazil. J. Plant Pathol. 94: 465-467.
- Butler, M., T. A. Stadler. 2011. Review on the mode of action and current use of petroleum distilled spray oils. In: Stoytcheva M, editor. Pesticides in the Modern World—Pesticides Use and Management. In Tech, 2011. 119-136 pp.
- Cabrera-Cabrera, R. I., C. González-Fernández, D. Hernández-Espinosa, J. L. Rodríguez-Tapia, J. Ferrer-González, y N. Herrera-Batista, n. 2010. Evaluación de los aceites minerales Sigatoka y Rocío Spray en el control de *Diaphorina citri* Kuw. Revista CitriFrut 27 (1): 23-27
- Cázares-Alonso, N. P., M. J. Verde-Star, J. I. López-Arroyo, y I. H. Almeyda-León. 2014. Evaluación de diferentes extractos vegetales contra el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Rev. Colomb. Entomol. 40 (1): 67-73.
- Chapman, P. J, I. A. Riehl, and G. W. Pearce. 1952. Oil sprays for fruit trees. United States. Department of Agriculture. Yearbook of Agriculture. 1952: 229-239.
- Chen, C., J. Zheng, J. Xie, X. Xie, and R. Mao. 2009. Pest management based on petroleum spray oil in navel orange orchard in Ganzhou, south China. J. Pest Sci 82: 155-162.
- Childers, C. C. 2002. Practical use of horticultural oils in integrated pest and disease management programs and their impact on natural enemies, 332–348 pp. In G. A. C. Beattie, D. M. Watson, M. L. Stevens, D. J. Rae, and R. N. Spooner-Hart [eds.], Spray Oils beyond 2000 - Sustainable Pest and Disease Management. University of Western, Sydney, Australia

- 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.
- 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. Arthropods Management Tests 27: D2.
- Cortez-Mondaca, E., J. L. López-Arroyo, L. M. Hernández-Fuentes, A. Fú-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 Núm. 35. Campo experimental Valle Del Fuerte. Juan José Ríos, Sinaloa, México.
- Cortez-Mondaca, E., J. Loera-Gallardo, L. M. Hernández-Fuentes, J. F. Barrera-Gaytán, A. A. Fontes-Puebla, U. Díaz-Zorrilla, J. Jasso-Argumedo, M. A. Reyes-Rosas, M. A. Manzanilla-Ramírez y J. López-Arroyo. 2013. Manual para el Uso de Insecticidas Convencionales y Alternativos en el Manejo de *Diaphorina citri* Kuwayama en Cítricos, en México. Folleto Técnico 36. INIFAP-CIRNO-CEVAF. México. 23 p.
- Davidson, N. A., J. E. Dibble, M. L. Flint, P. J. Marer, A. Guye. 1991. Managing Insects and Mites with Spray Oils. IPM Education and Publications. Statewide-Integrated Pest Management Project. University de California. Publication 3347. 47 p.
- del Puerto, R. A. M., S.T. Suárez y E. D. E. Palacio. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. 52 (3): 372-387.
- de Ong E. R. 1926 Technical aspects of petroleum oils and oil sprays J. Econ. Ent. 19: 733-745.
- Ebeling, W. 1974. Permeability of insect cuticle. In: The physiology of insecta. (ed. Rockstein M.) 2nd Edn, 6:271-343. Academic Press, London.
- EPPO. 2018. *Diaphorina citri* (DIAACI). En línea). Disponible en <https://gd.eppo.int/taxon/DIAACI/distribution>. (Fecha de consulta 20 de junio de 2018).
- EPPO. 2018. *Liberibacter asiaticus* (LIBEAS). En línea). Disponible en <https://gd.eppo.int/taxon/LIBEAS/distribution/AR>. (Fecha de consulta 20 de junio de 2018).
- Flores, J. L., G. Aguilera, E. Loeza, S. Domínguez, G. Acevedo, y J. L. López. 2012. Yield Loss Modeling of *Candidatus Liberibacter asiaticus* on Persian Lime (*Citrus Latifolia*) in southern Mexico. In: Book of Abstracts of the XII International Citrus Congress. S12P01 199 p. Valencia, Spain. 18-23 November.

- Fonseca, O., N. Valera, y C. Vásquez. 2007. Registro y ciclo de vida de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en tres hospederos en el estado Lara, Venezuela. *Entomotropica*. 22 (3): 145-152.
- García, D. C. S. 2009. *Diaphorina citri* Kawayama (Hemiptera: Psyllidae), vector de la bacteria que causa el Huanglongbing (HLB- Greening). Ministerio de Produccion Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Pesca y Alimentacion. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Buenos Aires. Argentina
- García, Y., Y. P. Ramos, P. A. Sotelo, y T. Kondo. 2016. Biología de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) bajo condiciones de invernadero en Palmira, Colombia. *Rev. Colomb. Entomol.* 42:36-42.
- García-Méndez, V. H., L. D. Ortega-Arenas, J. A. Villanueva-Jiménez, y H. Sánchez-Arroyo. 2016. Susceptibilidad se *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) a insecticidas en Veracruz, México. *Agrociencia*. 50: 355-365.
- Garnier, M. and J. M. Bove. 2000. Huanglongbing (greening), pp. 46-48. In L. W. Timmer, S. M. Garnsey, and J. H. Graham (eds.). *Compendium of Citrus Diseases*, second edition. APS Press, St. Paul, Minn.
- Gibbs, A. G. 1998. Water-proofing properties of cuticular lipids. *American Zoologist*. 38:471-482.
- González, R. 1990. Aceite mineral en aplicaciones de salidas de invierno. *Boletín Agrícola*. 50(1): 2-4.
- Halbert, S. E, and C. A. Núñez. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean Basin. *Fla. Entomol.* 87: 401-402.
- Halbert, S. E., and L. M. 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):330-353.
- Hall, D. G., M. L. Richardson, E. D. Ammar, and S. E. Halbert. 2013. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of huanglongbing disease. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 146: 207-223.
- Hernández-Fuentes, L. M., M.A. Urías-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. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 427-439.

- Hodgkinson, M. C., D. Johnson, and G. Smith. (2002). Causes of phytotoxicity induced by petroleum-derived spray oil. In: Spray Oils Beyond 2000, Beattie, G.A.C., Watson, D.M., Stevens, M.L., Rae, D.J. & Spooner-Hart R.N., pp. 170-178, Univ. of Western Sydney Press, Australia.
- Hoy, M. A. 2011. Agricultural Acarology: Introduction to Integrated Mite Management. New York. CRC Press. 410 p.
- Kallianpur, A. S., G. A. Herron, G. A. C. Beattie, and D. M. Watson. 2002. Potter spray tower bioassays of two horticultural mineral oils against tomato thrips, tomato russet mite and greenhouse whitefly adults, and common brown leafhopper nymphs. pag. 112-117. In G. A. C. Beattie., D. M. Watson, M. L. Stevens, D. J. Rae, R. N. Spooner-Hart. (eds.). Spray Oils Beyond 2000 - Sustainable Pest and Disease Management. University of Western Sydney. Australia. 627 p.
- 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.
- Leong, S. C., F. Abang, G. A. C. Beattie, R. J. Kueh H, and S. K. Wong. 2012. Impacts of horticultural mineral oils and two insecticide practices on population fluctuation of *Diaphorina citri* and spread of huanglongbing in a citrus orchard in Sarawak. Sci. World J. 2012: 1-7.
- Lewis-Rosenblum, H., X. Martini, S. Tiwari, and L. L. Stelinski. 2015. Seasonal movement patterns and long-range dispersal of Asian citrus psyllid in Florida citrus. J. Econ. Entomol. 108 (1): 3-10.
- Li, W., S. Hartung, and L. Levy. 2006. Quantitative real-time PCR for detection and identification of *Candidatus Liberibacter* species associated with citrus Huanglongbing. J. Microbiol Methods. 66(1): 104-115.
- Lin, H., M. Kogan, and D. Fischer. 1990. Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. Environ. Entomol. 19: 1852-1857.
- Liu, Z. M., and G. A. C. Beattie. 2002. Effect of a horticultural mineral oil on oviposition by two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae. Aust. Entomol. Soc. 31: 65-67.

- López, J. I., J. Jasso, M. A. Reyes, J. Loera, E. Cortez, y M. A. Miranda. 2009. Perspectives for biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Mexico, pp. 329-330. In: T. R. Gottwald, J. H. Graham, Editors. Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. Dec. 1-5, 2008. Orlando, Florida. Plant Management Network.
- López, J. I., A. Peña, M. A. Rocha y J. Loera. 2005. Ocurrencia en México del psílido asiático *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chih., Méx. 68 p.
- López-Callado, J., I. López-Arroyo J, P. L. Robles-García y M. Márquez-Santos. 2013. Geographic distribution of habitat, development, and population growth rates of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in Mexico. J. Insect. Sci. 13: 114.
- López, J. D., B. K. Fritz, M. A. Latheef, Y. Lan, D. E. Martin, and W. C. Hoffmann. 2008. Evaluation of toxicity of selected insecticides against thrips on cotton in laboratory bioassays. J. Cotton Sci. 12: 188-194.
- Macías-Rodríguez, L.C., C. Santillán-Ortega, A. Robles-Bermúdez, N. Isiordia-Aquino, y M. Ortiz-Catón. 2013. Insecticidas de bajo impacto ambiental para el control de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en limón persa en “la fortuna”, Nayarit, México. Revista Bio ciencias. 2(3): 6.
- Manjunath, K. L., S. E. Halbert, C. Ramadugu, S. Webb, and R. F. Lee. 2008. Detection of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in *Diaphorina citri* and its importance in the Management of Citrus Huanglongbing in Florida. Phytopathology. 98 (4): 387-396.
- Mann, S. R., S. Tiwari, J. M. Smoot, L. R. Rouseff, and L. L. Stelinski. 2012. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). J. Appl. Entomol. 136: 1-10.
- Martínez-Ferrer, M. T., J. M. Fibla, J. M. Campos, E. Beltrán, and J. L. Ripollés. 2003. Aplicación de aceites minerales insecticidas en árboles adultos de cítricos para el control de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae) y otras plagas de verano (I): Eficacia sobre plagas. Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 29: 281-289.
- Mensah, R. K., B. Frerot. and F. Al Dabel. 2005. Effect of petroleum spray oils on oviposition behaviour and larval survival of *Helicoverpa armigera* and *Ostrinia nubilalis*. Int. J. of Pest Manage. 51:111-119.

- Mora-Aguilera, G., P. Robles-García, J. López-Arroyo, J. Flores-Sánchez, G. Acevedo-Sánchez, S. Domínguez-Monge, A. Gutierrez-Espinosa, y E. Loeza-Kuk. 2014. Situación Actual y Perspectivas de Manejo del HLB de los Cítricos. *Rev. Mex. Fitopatol.* 32: 108-119.
- Najar-Rodríguez, A. J., G. H. Walter, and R. K Mensah. 2007. The efficacy of a petroleum spray oil against *Aphis gossypii* Glover on cotton. Part 1: mortality rates and sources of variation. *Pest Manag. Sci.* 63: 586-595.
- Najar-Rodríguez, A. J., N. A. Lavidis, R. K. Mensah, P. T. Choy, and G. H. Walter. 2008. The toxicological effects of petroleum spray oils on insects-evidence for an alternative mode of action and possible new control options. *Food Chem. Toxicol.* 46:3003-3014.
- 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* (Hem., Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. *J. Appl. Entomol.* 131 (9-10): 709-715
- Nguyen, V. L., A. Meats, G. A. C. Beattie, R. SpoonerHart, and Z. M. Liu. 2007. Behavioural responses of female Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni*, to mineral oil deposits. *Entomol. Exp Appl.* 122: 215-221
- Orozco-Santos, M., M. Robles, L. M. Hernández, J. J. Velázquez, M de J. Bermudez, M. Manzanilla, G. Manzo, y D. Nieto. 2016. Uso de Aceites y Extractos Vegetales para el Control de *Diaphorina citri* Kuwayama en Lima Mexicana en el Trópico Seco de México. *Southwest. Entomol.* 41(4): 1051-1066.
- Ortega-Arenas, L. D., A. Lagunes T., J. C. Rodríguez M, C. Rodríguez, 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: 249-254.
- Ouyang, G. C., Y. P Yang, G. L. Zhong, J. J. Xiong, M. D. Huang, and G. W. Liang 2008. Oviposition repellency and EAG responses the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) to mineral spray oils. *Acta Entomol. Sin.* 51: 390-394.
- Ouyang, G., F. Xiaoduan, H. Lu, X. Zhou, X. Meng, S. Yu, M. Guo, and Y. Xia. 2013. Repellency of five mineral oils against *Diaphorina citri* (Hemiptera:Liviidae). *Fla. Entomol.* 96: 974-982.
- Pearce, G. W.; P. J. Chapman, and A. W. Avens. 1942. The efficiency of dormant type oils in relation to their composition. *J. Econ. Entomol.* 35 (2): 211-220.

- Pérez, P. R., y B. R. Montes. 1992. Efectos de extractos vegetales y aceites en el control de virosis, mosquita blanca y picuda del chile. Resumen del XXIX Congreso Nacional de Entomología. S.M.E. San Luis Potosí, México. 205 p.
- Pérez-Zarate, L. A., F. Osorio-Acosta, J. A. Villanueva-Jiménez, L. D. Ortega-Arenas, y R. G. Chiquito-Contreras. 2016. Factores que inciden en el control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en áreas regionales de control. Southwest. Entomol. 41: 1037-1050.
- Poerwanto, M. E., Y. A. Trisyono, G. A. C. Beattie, S. Subandiyah, E. Martono, and P. Holford. 2011. Olfactory responses of Asiatic Citrus psyllid (*Diaphorina citri*) to mineral oil treated mandarin leaves. J. Nat. Stud. 10:32–37.
- Polek, M., G. K. Vidalakis, and Godfrey. 2007. Citrus bacterial canker disease and Huanglongbing (Citrus greening). ANR. Publ. 8218. University of California. Davis.
- Qureshi, J. A., B. C. Kostyk, and P. A. Stansly. 2010. Ground application of foliar insecticides to ‘Valencia’ oranges for control of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Proc. Fla. State Hort. Soc. 123:109-112.
- Qureshi, J. A., B.C. Kostyk, and P.A. Stansly. 2014. Insecticidal Suppression of Asian Citrus Psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) Vector of Huanglongbing Pathogens. PLoS ONE 9(12): e112331.
- Qureshi, J. A., and P. A. Stansly. 2007. Integrated approaches for managing the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). Proc. Fla. State Hort. Soc. 120:110-115.
- Rae, D. J., W. G. Liang, D. M. Watson, G. A. C. 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. Int. J. Pest. Manage. 43: 71-75.
- Ramírez-Sánchez, A. K., L. D. Ortega-Arenas, J. J. Velázquez-Monreal y J. M. Valdez-Carrasco. 2016. Supervivencia y Reproducción de *Diaphorina citri* en Plantas de Naranja y Lima Mexicana Sanas e Infectadas con *Candidatus Liberibacter asiaticus*. Southwest. Entomol.41 (3):801-812
- Ramos, M. C. 2008. Huanglongbing (“citrus greening”) y el psilido asiatico de los citricos, una perspectiva de su situacion actual cultivo. OIRSA, Mexico. (En línea). Disponible en <http://www.oirsa.org/aplicaciones/subidoarchivos/BibliotecaVirtual/CaracterizacionHLB.pdf>.(Fecha de consulta 20 de junio de 2018).

- Rand, G. M., P. G. Wells, and L. S. McCarty. 1995. Introduction to aquatic toxicology. In: Fundamentals of aquatic toxicology, Rand, G.M., 3–66 pp. 2nd edn. Taylor and Francis, Washington, DC
- Riehl, L. A. 1969. Advances relevant to narrow-range spray oils on citrus pest control. Proceedings of the First International Citrus Symposium 2, 897–907. Riverside, California.
- Riehl, L. A. 1988. Of developments in mineral spray oils. Proceedings of the Sixth International Citrus Congress. 1253-1267.
- Ripollés, J. L., A. M. Marsa, y M. Martínez. 1995. Desarrollo de un programa de control integrado de las plagas de los cítricos en las comarcas del Baix Ebre-Montsiá. Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos 332: 232- 248.
- Robles, G. P. 2012. Protocolo para establecer Áreas Regionales de Control del Huanglongbing y el Psílido Asiático de los Cítricos (ARCOs). Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx/?doc=9364> Fecha de consulta 12 de mayo de 2018)
- Robles-González, M. M, J. J. Velázquez-Monreal, M. A. Manzanilla-Ramírez, M. Orozco-Santos, V. M. Medina-Urrutia, J. I. López-Arroyo, y R. Flores-Virgen. 2013. Síntomas del Huanglongbing (HLB) en Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia*) y su Dispersión en el Estado de Colima, México. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 19(1): 15-31.
- Rodríguez, M. C., G. Silva, y P. Guzmán. 2009. El Bioensayo con Plaguicidas en Artrópodos. En: Tópicos Selectos de Estadística Aplicados a la Fitosanidad. Primera Edición. Colegio de Postgraduados, Montecillo. Texcoco. México. 129-158 pp.
- Rogers, M. E, and A. Stansly. 2006. Biology and management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, in Florida citrus. Bulletin 739. Institute of Food and Agricultural Sciences of the University of Florida. 7 p.
- Ruiz-Galván, I., N. Bautista-Martínez, H. Sánchez-Arroyo y F.A. Valenzuela-Escoboza. 2015. Control químico de *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Liviidae) en lima persa. Acta zoológica Mexicana. 31: 41-47.
- SAGARPA.2012. México, entre los líderes en producción de cítricos a nivel mundial. (En línea). Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sanluispotosi/boletines/Paginas/BOL1301112.aspx> (Fecha de consulta 10 de febrero de 2018)
- Salcedo, B. D., R. Hinojosa., G. Mora, I. Covarrubias, F. dePaolis, S. Mora, y C. Cíantora. 2010. Evaluación del impacto económico del Huanglongbing (HLB) en la cadena cítrica

- mexicana. (En línea). Disponible en <http://legacy.iica.int/Esp/regiones/norte/mexico/Publicaciones%20de%20la%20Oficina/B2009e.pdf>. (Fecha de consulta 08 de abril de 2018)
- Salcedo, D., I. Raúl, G. Mora, I. Covarrubias, F. Deapolis y S. Mora. 2012. Evaluación de Impacto Económico de Huanglongbing (HLB) en la Cadena Citrícola Mexicana, Inter American Institute for Cooperation on Agriculture IICA, México, D.F.
- SAS. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Publishing. Cary, North Carolina. 5180 p.
- Schuster, D. J., S. Thompson, L. D. Ortega A. and J. E. Polston. 2009. Laboratory evaluation of products to reduce settling of sweetpotato whitefly adults. *J. Econ. Entomol.* 102: 1482-1489.
- SENASICA. 2012. Protocolo para establecer áreas regionales de control del huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos (ARCOs). Disponible en: <http://www.siafeson.com/sitios/simdia/docs/protocolos/ProtocoloparaestablecerAreasRegionalesARCOSDICIEMBRE2012.pdf> (Fecha de consulta 10 de junio de 2018).
- SENASICA. 2017. Sexto informe mensual nacional huanglongbing de los cítricos. (En línea). Disponible en <http://sinavef.senasica.gob.mx/mdf/>
- SENASICA. 2017. Décimo Informe Mensual Nacional Huanglongbing De Los Cítricos. (En línea). Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/270358/10_Informe_nacional_HLB_octubre_2017_03_11_17_CPN.pdf. (Fecha de consulta 20 de abril de 2018)
- SENASICA. 2018a. Sexto Informe Mensual Nacional Huanglongbing De Los Cítricos. (En línea). Disponible https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/343505/Sexto_informe_HLB.pdf. (Fecha de consulta 02 de julio de 2018)
- SENASICA. 2018b. Presupuesto Huanglongbing de los cítricos. (En línea). Disponible <https://www.gob.mx/senasica/documentos/presupuesto-campana-huanglongbing-2016>. (Fecha de consulta 02 de julio de 2018)
- SIAP. 2017. Avance de Siembras y Cosechas Resumen nacional por cultivo. (En línea). Disponible en http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do. (Fecha de consulta 20 de abril de 2018) (Fecha de consulta 20 de junio de 2018)

- Sieburth, P. J., W. J. Schroeder, and R. T. Mayer. 1998. Effects of oil and oil-surfactant combinations on silverleaf whitefly nymphs (Homoptera: Aleyrodidae) on Collards. *Fla. Entomol.* 81 (3): 446-450
- Smith, E. H., and E. H. Salked. 1966. The use and action of ovicide. *Annu. Rev. Entomol.* 11: 174-180.
- Stadler, T. and M. Buteler. 2009. Modes of entry of petroleum distilled spray-oils into insects: a review. *Bulletin of Insectology. Department of Agroenvironmental Sciences and Technologies.*62: 169-169
- Stansly, P. A., J. A. Qureshi, and B.C. Kostyk. 2011. Foliar applications of BYIO2960 compared to commonly used insecticides for control of Asian citrus psyllid and citrus leafminer in oranges: summer 2010. *Arthrop. Manag. Tests* 36: doi: 10.4182/amt.2011.D15.
- Stansly, P. A., T. X. Liu, and D. J. Schuster. 2002. Effects of horticultural mineral oils on a polyphagous whitefly, its plant hosts and its natural enemies. *Spray Oils beyond 2000: Sustainable Pest and Disease Management*, 120-133 pp.
- Stansly, P. A., B. Kostyk. 2012. Insecticidal control of Asian citrus psyllid with tolfenpyrad pyrifluquinazon, and spirotetramat, 2011. *Arthropod Management.* 37: Tests 2012.
- Stansly, P.A., J.A. Qureshi, and B. C. Kostyk. 2014. Evaluation of organic insecticides for control of Asian citrus psyllid: Summer, 2013. *Arthrop. Manag. Tests* 39: doi: 10.4182/amt.2014.
- Taverner, P. D., P. T. Bailey, and R. T. Roush. 1998. Old myths and new oils: insecticidal oils in action. In: *Pest Management – Future challenges. Proceedings of the 6th Australasian Applied Entomological Research Conference, Brisbane, Australia.* (eds M.P. Zalucki., R. A. I. Drew and G. G. White) 2: 186-193. The University of Queensland Printery.
- Taverner, D. P. 2002. Drowning or just waving? A perspective on the ways petroleum-derived oils kill arthropod pests of plants, pp. 78-87. In G. A. C. Beattie, D. M. Watson, M. L. Stevens, D. J. Rae, and R. N. Spooner-Hart[eds.], *Spray Oils beyond 2000 – Sustainable Pest and Disease Management.* University of Western, Sydney, Australia.
- Tiwari, S., R. S. Mann, M. E. Rogers, and L. L. Stelinsky. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest. Manag. Sci.* 67: 1258-1268.
- Tiwari, S, I. I. Stelinski, and M. E Rogers. 2012. Biochemical basis of organophosphate and carbamate resistance in Asian citrus psyllid. *J. Econ. Entomol.* 105 (2): 540-548.

- Trujillo, A. J. 2010. Situación Actual, Regulación y Manejo del HLB en México. Memorias del 2° Taller Internacional del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos. Mérida, Yucatan, México. 141-149 pp.
- Tsai, J., and Y. Liu. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. J. Econ. Entomol. 93(6): 1721-1725.
- Urbaneja, A., S. Pascual-Ruiz, T. Pina, R. Abad-Moyano, P. Vanaclocha, H. Montòn, O. Dembilio, P. Castañera, and J. A. Jacas. Efficacy of five selected acaricides against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and their side effects on relevant natural enemies occurring in citrus orchards. Pest. Manag. Sci. 64 (2008): 834-842.
- Van Overbeek J., and R. Blondeau. 1954. Mode of action of phytotoxic oils. Weeds, 3: 55-65 pp.
- Varela, S. E., M. Orozco, R. I. Torres, y G. L. Silva. 2013. Guía técnica para la identificación y manejo de plagas y enfermedades en cítricos. Primera ed. Universidad Autónoma de Tamaulipas, Fundación Produce Tamaulipas A.C. Cd. Victoria, Tamaulipas, México.
- Vázquez-García, M., J. Velázquez-Monreal, V. M. Medina-Urrutia, C. de J. Cruz-Vargas, M. Sandoval-Salazar, G. Virgen-Calleros, y J. P. Torres-Morán. 2013. Insecticide resistance in adult *Diaphorina citri* Kuwayama from lime orchards in central west Mexico. Southwest. Entomol. 38: 579–596.
- Wigglesworth, V. B., 1942. Some notes of the integument of insects in relation to the entry of contact insecticides. Bulletin of Entomological Research. 5: 61-65.
- Wigglesworth, V. B. 1945. Transpiration through the cuticle of insects. J. Expt. Biol. 25: 97-114.
- Xu, C., Y. Xia, K. Li, and C. Ke. 1990. Study on latent period of pathogen of citrus huanglongbing in citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw. Acta phytopathol. Sin 20(1):25-31.
- Yang, X. B., Y. M. Zhang, L. Hua, and T. X. Liu. 2010. Life history and life tables of *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae) on potato under laboratory and field conditions in the Lower Rio Grande Valley of Texas. J. Econ. Entomol. 103: 1729–1734.
- Yang, Y. P., G. A. C. Beattie, R. Spooner-Hart, M. D. Huang, I. Barchia, and P. Holford. 2013. Influences of leaf age and type, non-host volatiles, and mineral oil deposits on the incidence, distribution, and form of stylet tracks of *Diaphorina citri*. Entomol. Exp. Appl. 147: 33-49.
- Yang, Y. P., M. Huang, G. Andrew, C. Beattie, Y. Xia, G. Ouyang y J. Xiong. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kawayama a major pesto of citrus: A Status report for china. Int. J. Pest. Manage. 52(4):343-352