



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSGRADO EN FITOSANIDAD

ENTOMOLOGÍA Y ACAROLOGÍA

CAPACIDAD DEPREDADORA Y REPRODUCTIVA DE SEIS
ESPECIES DE CHRYSOPIDAE ALIMENTADAS SOBRE
Diaphorina citri Kuwayama (HEMIPTERA: LIVIIDAE)

MA. ILIANA PACHECO RUEDA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2015

La presente tesis titulada: **Capacidad depredadora y reproductiva de seis especies de Chrysopidae alimentadas sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)** realizada por la alumna **Ma. Iliana Pacheco Rueda**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

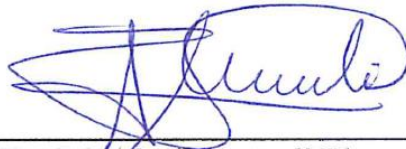
DOCTORA EN CIENCIA

FITOSANIDAD

ENTOMOLOGIA Y ACAROLOGIA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



Dr. J. Refugio Lomeli Flores

ASESOR:



Dr. Héctor González Hernández

ASESOR:



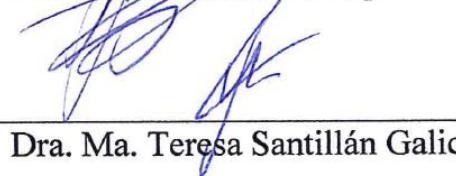
Dr. J. Isabel López Arroyo

ASESOR:



Dr. J. Jesús Romeros Nápoles

ASESOR:



Dra. Ma. Teresa Santillán Galicia

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios por darme salud, que es lo único que pido para seguir al pie del cañón en este sendero de vida, gracias por guiarme y poder despertar cada día para ser mejor persona y continuar en esta realidad de retos; con fracasos por atrás y por delante los éxitos que en conjunto me permite crecer como persona.

Agradezco al CONACYT por la beca otorgada para el desarrollo de la tesis doctoral.

Al Colegio de Postgraduados por haberme dado la oportunidad de entrar a su sistema educativo, donde me llevo experiencias y sobre todo la oportunidad de conocer un modo de vida como estudiante que se extrañará al haber concluido esta fase, porque en el conocí a los mejores profesores que han sabido compartir sus enseñanzas, y sin duda también conocí los mejores colegas que han sabido dar su amistad.

Agradezco profundamente a cada uno de los miembros de mi Consejo Particular, Dr. J. Refugio Lomeli Flores, Dr. Héctor González Hernández, Dra. Ma. Teresa Santillán Galicia, Dr. J. Isabel López Arroyo y al Dr. J. Jesús Romero Nápoles, por ellos que con sus regaños y enseñanzas he podido concluir esta fase doctoral, gracias por su apoyo y sus sabias palabras para mi formación profesional, que Dios los bendiga.

A los amigos del Colegio de Postgraduados, que me brindaron su amistad, por permitir conocerlos en la parte profesional y personal, por los buenos momentos, y en las malas rachas también, mil gracias; Haidel, Nadia, Salvador, Nuvia, Lupita, Patricio, Karla, Fabián, Jorge, Fernando, Santo, Alfredo, Imelda, Martín, Flor, Hilda, Ernesto, Trinidad.

A Angélica y Chuy, mis queridos compadres del alma, mi carnala de corazón que en cada momento de mi vida siempre estas.

A Jesús, estimado chucho y amigo que me brindaste tu amistad con humildad y enseñanzas de la vida.

A mi Amigo Juan M., biólogo de Iztacala de corazón, y de corazón te agradezco infinitamente tu amistad y regaños en mi formación profesional y personal, gracias por tu apoyo.

A Edgar gran amigo que supimos estar en las buenas y en las malas, por tu linda amistad y apoyo que me das día a día, gracias por acercarme a Dios.

A Alfonso, buen amigo desde que iniciamos juntos la maestría, por tu sencillez y consejos que me brindaste durante todo este tiempo.

Al proyecto FONSEC SAGARPA-CONACYT 2009-108591 “Manejo de la enfermedad Huanglongbing (HLB) mediante el control de poblaciones del vector *Diaphorina citri*, el psílido asiático de los cítricos”.

Al Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) en Tecomán, Colima, que por medio del M.C. Hugo C. Arredondo Bernal y del Ing. Jorge Sánchez, fue posible usar las instalaciones para realizar los experimentos y por el material proporcionado del PAC.

DEDICATORIA

A mi Papá Daniel, que en cada momento me apoya y por ser un pilar de mi vida de mayor importancia, sin ti no soy nada, gracias Papá por creer en mí.

A mi Mamá Ma. Luisa, mi pilar de gran motivación para continuar creciendo en la parte profesional y personal, gracias por ser mi confidente.

A mis hermanos; Adriana, Geo y Juan, por su apoyo incondicional.

A mis sobrinas y sobrino; Gabriela, Caro y Uriel, mis niños lindos que amo y adoro con todo mi corazón, por su travesuras que disfruto mucho.

A ti Carlos mi querido amor, por tu apoyo y haber llegado a mi vida, gracias por este momento y por los que vienen para compartir nuestras vidas.

A mis estimados suegros Inés y Jaime, gracias por su apoyo, bendiciones, y por la enseñanza de la palabra de Dios.

Capacidad depredadora y reproductiva de seis especies de Chrysopidae alimentadas sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)

Iliana Pacheco Rueda DRA.

Colegio de Postgraduados 2015

RESUMEN

El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), es la plaga de mayor importancia para la citricultura mundial, considerada así por su papel como vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., patógeno asociado a la enfermedad conocida como Huanglongbing (HLB) causante de la pérdida continua de cítricos en todo el mundo. En México, su manejo se basa principalmente en el uso de insecticidas dirigidos al vector y con estrategias de control biológico mediante la liberación del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). La producción masiva de este agente requiere mantener poblaciones sobre ninfas de *D. citri* en brotes vegetativos de la planta de *Murraya paniculata* (L.) Jack., lo cual incrementa notablemente el costo de producción, por lo que se explora el uso de otros enemigos naturales cuyo uso sea viable económicamente, que estén adaptados a las condiciones de la citricultura, y que presenten potencial de depredación sobre *D. citri*. Por lo anterior, el actual estudio consistió en evaluar el ciclo biológico, parámetros poblacionales, respuesta funcional y preferencia de presa de tres especies de *Chrysoperla* y tres de *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre ninfas de *D. citri* en condiciones de laboratorio. Los resultados mostraron que todos los instares larvales de las seis especies estudiadas consumieron vorazmente los diferentes tamaños de ninfas, aunque presentaron una tendencia a consumir ninfas pequeñas (instares I y II). *C. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* presentaron una respuesta funcional tipo II, en cambio para *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri* fue de tipo I. *C. comanche* fue la especie que presentó el ciclo biológico más corto (25.3 días) y *Ce. valida* el más largo (34.9 días).

Palabras clave: *Ceraeochrysa* y *Chrysoperla*, parámetros poblacionales, respuesta funcional, preferencia de presa, control biológico

Predatory and reproductive capacity of six species of Chrysopidae feeding on
Diaphorina citri (Hemiptera: Liviidae)

Iliana Pacheco Rueda DRA.
Colegio de Postgraduados, 2015

ABSTRACT

The asian citrus psyllid (ACP), *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), is nowadays the most important pest in the worldwide citrus industry; mainly because it is the vector of candidatus *Liberibacter* spp., a bacteria that causes the disease named Huanglongbing (HLB), which has been the cause of the loss of productive citrus trees all over the world.

In the case of the Mexican citrus production, the HLB management is based on the use of pesticides intended to control ACP and also using biological control strategies, especially with the release of the natural enemy *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). Mass production of *T. radiata* requires the availability of *D. citri* nymphs grown on tender shoots of the host plant *Murraya paniculata* (L.) Jack. This requirement represents a high production cost, making *Tamarixia* difficult to produce for commercial purposes. This is why it is necessary to have approachability to other natural enemies biologically successful on the present commercial citrus groves, and also with higher economic feasibility and with higher predatory capabilities on *D. citri*.

Therefore, this project has the purpose of assessing the biological cycle, population parameters, functional response and prey preference on three species of *Chrysoperla* and three *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) on *D. citri* nymphae under laboratory controlled conditions.

Results showed that all six alternative natural enemies in their larval instars fed vigorously on *D. citri* nymphs; nonetheless, there was a slight preference to small sized nymphs (instars I and II). *C. rufilabris*, *C. comanche* and *C. valid* were identified as having a functional response type II, while *C. externa*, *C. cincta* and *C. claveri* functional response was type II. *C. comanche* was identified as the one with the shortest biological cycle and (25.3 days) and *C. valida* with the longest (34.9 days).

Key words: *Ceraeochrysa* y *Chrysoperla*, population parameters, functional response, prey preference, biological control.

CONTENIDO	Pág.
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
1.1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.3 ANTECEDENTES.....	4
1.3.1 Importancia de la citricultura.....	4
1.3.2 Plagas y enfermedades de los cítricos.....	5
1.3.3. <i>Diaphorina citri</i>	5
1.3.4 <i>Candidatus Liberibacter</i>	6
1.3.5 Estrategias de control del PAC-HLB.....	7
1.3.6 Métodos de control del PAC.....	8
1.3.7 Control biológico.....	9
1.3.8 Neurópteros como agentes de control biológico en plagas de cítricos.....	10
CAPÍTULO II. Preferencia de tamaño de presa en seis especies de Chrysopidae (Neuroptera) sobre <i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Liviidae).....	12
2.1 Introducción.....	12
2.2 Materiales y Métodos.....	13
2.2.1 Depredador y presa.....	13
2.2.2 Condiciones generales de los experimentos.....	15
2.2.3 Experimento 1. Sin opción de presa.....	15
2.2.4 Experimento 2. Opción de presa.....	16
2.2.5 Análisis estadístico.....	16
2.3 Resultados.....	18
2.3.1 Preferencia de presa en <i>Chrysoperla</i>	18
2.3.2 Índice de preferencia de presa en <i>Chrysoperla</i>	19

2.3.3 Preferencia de presa en <i>Ceraeochrysa</i>	20
2.3.4 Índice de preferencia de presa en <i>Ceraeochrysa</i>	21
2.4. Discusión.....	22
CAPÍTULO III. Respuesta funcional de tres especies de <i>Chrysoperla</i> y tres de <i>Ceraeochrysa</i> (Neuroptera: Chrysopidae) al alimentarse de ninfas de <i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Liviidae).....	26
3.1 Introducción.....	26
3.2 Material y métodos.....	28
3.2.1 Cría de Insectos	28
3.2.2 Respuesta funcional: densidades de ninfas.	28
3.2.3 Análisis de datos.....	29
3.3 Resultados.....	32
3.3.1 Respuesta funcional de <i>Chrysoperla. rufilabris</i> , <i>C. comanche</i> y <i>Ce. valida</i>	31
3.3.2 Respuesta funcional de <i>C. externa</i> , <i>Ce. cincta</i> y <i>Ce. claveri</i>	35
3.4 Discusión.....	39
CAPÍTULO IV. Parámetros poblacionales de tres especies de <i>Chrysoperla</i> y dos de <i>Ceraeochrysa</i> (Neuroptera: Chrysopidae) sobre <i>Diaphorina citri</i> (Hemiptera: Liviidae).....	42
4.1 Introducción.....	42
4.2 Materiales y Métodos.....	43
4.2.1 Depredador.....	43
4.2.1.1 Presa.....	44
4.2.2 Ciclo de vida.....	44
4.2.3 Análisis de datos.....	44
4.2.4 Preoviposición y Fecundidad de <i>Chrysoperla</i> y <i>Ceraeochrysa</i>	45
4.2.5 Análisis de datos.....	45
4.3 Resultados.....	46
4.3.1 Tiempo de desarrollo biológico de tres especies de <i>Chrysoperlas</i>	47
4.3.2 Fecundidad de especies de <i>Chrysoperlas</i>	46
4.3.3 Tiempo de desarrollo biológico de tres especies de <i>Ceraeochrysa</i>	48
4.3.4 Fecundidad de especies <i>Chrysoperlas</i>	49
4.4 Discusión.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

- Fig. 1. Respuesta funcional tipo II de (a) *C. rufilabris*, (b) *C. comanche*, (c) *Ce. valida*.
Medias (\pm EE) de ninfas del PAC consumidas (i) y proporción de presas consumidas (ii)... 34
- Fig. 2. Respuesta funcional de tipo I (a) *C. externa*, (b) *Ce. cincta*, (c) *Ce. claveri*. Medias (\pm DE)
de ninfas del PAC consumidas (i) y proporción de presas consumidas (ii)..... 38
- Fig. 3. Fecundidad semanal de cinco especies de crisópidos. Tratamientos dentro de la misma
semana y con letras iguales, no presentaron diferencias entre sí ($\alpha= 0.05$)..... 49

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Consumo por larvas de <i>Chrysoperla</i> sobre tres tamaños de presas de <i>Diaphorina citri</i> en un periodo de 6 h en condiciones controladas [$25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ con 60-70% de HR, fotoperiodo de 16:8 h (L: O)].....	19
Cuadro 2.	Preferencia en el consumo de presa de acuerdo con el índice de Manly's (β) para tres especies de <i>Chrysoperla</i> sobre los cinco instares ninfales de <i>D.citri</i>	20
Cuadro 3.	Consumo por tres especies de larvas de <i>Ceraeochrysa</i> sobre tres tamaños de presas de <i>Diaphorina citri</i> en un periodo de 6 h.....	21
Cuadro 4.	Preferencia en el consumo de presa de acuerdo con el de índice de Manly's (β) para tres especies de <i>Ceraeochrysa</i> sobre los cinco instares ninfales de <i>D. citri</i>	22
Cuadro 5.	Análisis de la regresión logística de la proporción de ninfas del PAC consumidas por <i>C. rufilabris</i> , <i>C. comanche</i> y <i>Ce. valida</i> (respuesta funcional tipo II).....	32
Cuadro 6.	Coefficiente de ataque (a) y Tiempo de manipuleo (T_h) de la respuesta funcional tipo II de <i>C. rufilabris</i> , <i>C. comanche</i> y <i>Ce. valida</i> a densidades de ninfas del PAC.....	33
Cuadro 7.	Comparación entre <i>C. rufilabris</i> , <i>C. comanche</i> y <i>Ce. valida</i> cuando se les ofrece diferentes densidades de la presa de ninfas del PAC.....	35
Cuadro 8.	Análisis de la regresión logística de la proporción de ninfas del PAC consumidas por <i>C. externa</i> , <i>Ce. cincta</i> y <i>Ce. claveri</i>	36
Cuadro 9.	Coefficiente de ataque (a) de la respuesta funcional de <i>C. externa</i> , <i>Ce. cincta</i> y <i>Ce. claveri</i> a densidades de ninfas del PAC.....	36
Cuadro 10.	Comparación de Medias ($\pm\text{DE}$) de ninfas del PAC depredadas por <i>C. externa</i> , <i>Ce. cincta</i> y <i>Ce. claveri</i> cuando se les ofrece diferentes densidades de la presa	37

Cuadro 11.	Rasgos biológicos de tres especies de <i>Chrysoperla</i> alimentado con ninfas de <i>D. citri</i> alimentadas sobre ninfas de <i>D. citri</i> (n=100).....	46
Cuadro 12.	Rasgos biológicos de tres especies de <i>Ceraeochrysa</i> alimentadas sobre ninfas de <i>D. citri</i> (n=100).....	48
Cuadro 13.	Parámetros poblacionales de tres especies de <i>Chrysoperla</i> y dos de <i>Ceraeochrysa</i>	50

CAPÍTULO I

Revisión de Literatura

1.1 INTRODUCCIÓN

La citricultura representa una actividad de gran importancia socioeconómica dentro de la fruticultura nacional (Trujillo *et al.* 2008). Cuenta con una superficie cultivada de 560 mil hectáreas, de las cuales se obtienen anualmente alrededor de 7 millones de toneladas, lo que coloca a México como el quinto país en producción de cítricos en el mundo (SIAP 2014). Esta actividad es afectada por plagas y enfermedades, de las cuales *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), el psílido asiático de los cítricos (PAC), es considerada la principal amenaza para la producción de estos cultivos en el mundo (Liu y Tsai 2000). El mayor peligro del PAC está relacionada con la transmisión de la bacteria *Candidatus Liberibacter spp.*, agente causal de la enfermedad más devastadora de los cítricos, el Huanglongbing (HLB), responsable de la muerte de millones de árboles cítricos en Asia, África y América (Xu *et al.* 1990, Huang *et al.* 1990, Bové 2006, Batool *et al.* 2007). Hasta ahora el manejo del PAC es con basa en el control químico y el biológico (Mc.Kenzie y Puterka 2004). Para realizar este último es importante considerar diversos aspectos de los agentes de control biológico como el tipo de cultivo, la especificidad depredador-presa, la capacidad de búsqueda, la adaptabilidad del agente de control biológico y las condiciones ambientales donde se va a liberar el enemigo natural (Huffaker *et al.* 1971). En México, el programa de control biológico que se estableció para el PAC, implica la liberación masiva del parasitoide *Tamarixia radiata*, un ectoparásito de los tres últimos ínstares ninfales de este insecto (Gómez-Torres *et al.* 2012); sin embargo, el alto costo de producción del

parasitoide ha orillado a explorar otros agentes de control biológico, como son varias especies de coccinélidos y crisópidos que han demostrado una alta capacidad de consumo sobre diversas plagas abundantes en los cítricos de México y otras regiones del mundo (Etienne *et al.* 2001, Michaud 2001a, Michaud 2001b). Dos de los géneros de Chrysopidae más diversos y conocidos dentro de las zonas productoras de cítricos son *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* (Pappas *et al.* 2011), cuya dieta incluye especies de hemípteros de la familia Aphididae, Aleyrodidae, Psyllidae y Pseudococidae; además de trips, huevo y larvas de lepidópteros, escarabajos, moscas, ácaros y otros artrópodos de cuerpo blando (Canard *et al.* 1984, Duelli 2001). Estos depredadores se han registrado en huertos de naranja y limón mexicano, donde atacan al PAC, algunas de las especies reportadas son *Chrysoperla comanche* (Banks 1938), *C. rufilabris* (Burmeister 1839), *C. carnea*, *Ceraeochrysa valida* (Banks 1895) y *C. claveri* (Navas 1911) (Neuroptera: Chrysopidae) (López-Arroyo *et al.* 2008); sin embargo, poco se conoce de ellas y su impacto en las poblaciones del PAC.

En la búsqueda para evaluar el potencial de especies de Chrysopidae como agentes de control biológico de *D. citri* la presente investigación se desarrolló con los objetivos de determinar en seis especies de crisópidos la preferencia de presas, respuesta funcional, y rasgos biológicos y reproductivos al alimentarse con ninfas de *D. citri*.

1.2. OBJETIVOS

Objetivo General

- Conocer algunos aspectos biológicos de seis especies de Chrysopidae al ser alimentados con ninfas del psílido asiático de los cítricos

Objetivo Específicos

- Evaluar la preferencia de presa de los tres instares larvales de seis especies de crisópidos en ninfas de *D. citri*.
- Establecer la respuesta funcional en seis especies de crisópidos al ser alimentadas con ninfas de *D. citri*.
- Determinar rasgos biológicos y reproductivos de seis especies de crisópidos al ser alimentadas con ninfas de *D. citri*.

1.3 ANTECEDENTES

1.3.1 Importancia de la citricultura

La producción mundial de cítricos (Sapinales: Rutaceae) se estima en alrededor de 125 millones de toneladas anuales, siendo los principales países productores; China (24 millones de toneladas), India (10 millones), Brasil (22 millones), Estados Unidos (10 millones), Nigeria (17 millones) y México (7.1 millones) (FAOSTAT 2012, SIAP 2013). En cuanto a superficie sembrada, México ocupa el quinto lugar en cítricos a nivel mundial, con una superficie de 560 mil hectáreas sembradas en 27 estados y una cosecha de 7.1 millones de toneladas de frutas, entre los cuales la naranjas (63.3%), limón mexicano y limón persa (26.5%) son los cítricos que presentan mayor importancia económica (SIAP 2013): de tal manera que México, es el segundo exportador de limón persa en fresco (Díaz 2010).

La citricultura nacional es una actividad económicamente redituable y con bajo impacto ecológico, por la disminución del uso de agroquímicos (Salcedo *et al.* 2012); sin embargo, esta estabilidad se ve amenazada por diferentes plagas exóticas, entre ellas *Diaphorina citri* Kuwayama que ha impactado negativamente la producción y rendimiento de estos cultivos no sólo en México, sino también en diferentes regiones del mundo. *D. citri* es el principal vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter spp.*, la cual es el agente causal de la enfermedad de los cítricos conocida como Huanglongbing (HLB) (Xu *et al.* 1990, Huang *et al.* 1990, Bové 2006, Batool *et al.* 2007), y es la más devastadora para la citricultura a nivel mundial (De Graca 1991, Bové 2006, Gottwald 2010).

1.3.2 Plagas y enfermedades de los cítricos

Como cualquier especie bajo condiciones de monocultivo, los cítricos son atacados por diversas plagas y enfermedades, algunas de estas son: el pulgón negro y el pulgón café de los cítricos, *Toxoptera aurantii* Boyer de Fonscolombe y *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae), aunque ambas especies son vectores de una enfermedad de origen viral, el virus de tristeza de los cítricos (VTC), *T. aurantii* es menos activa como vector del VTC que *T. citricida* (Rocha *et al.* 1995). La escama negra, *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae), plaga polífaga y de importancia económica en olivos, cítricos y plantas ornamentales, los ataques severos conllevan a la formación de fumagina. La escama nevada de los cítricos, *Unaspis citri* (Comstock), invade todas las partes del árbol de cítricos, siendo más abundante en los troncos y ramas (Coronado 1993). La mosca prieta de los cítricos, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, que en infestaciones fuertes llega a cubrir hasta el 90% del envés de la hoja, lo cual propicia la fumagina (De Lemos *et al.* 2006). El minador de hoja de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* (Stainton), microlepidóptero que ataca a las hojas tiernas, el daño es provocado por la larva (Soptonagel y Díaz 1994)

1.3.3 *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae)

El psílido asiático de los cítricos (PAC), es una especie oligófaga, solo se desarrolla en plantas de la familia Rutaceae, particularmente sobre los géneros *Citrus* y *Murraya* (Etienne *et al.* 1998). Probablemente es originario de la India, donde se reporta sobre *Murraya* spp. (Husain y Natha 1927). En América el PAC se presentó en Brasil desde los años 60 (Manjunath *et al.* 2008) y en Florida (EUA) en 1998 (Pluker *et al.* 2008). El PAC

se detectó por primera vez en México en el 2002 en Campeche y hoy en día se encuentra establecido en casi todo el país (López-Arroyo *et al.* 2005, SENASICA 2012). Actualmente, el PAC es la plaga más importante de los cítricos en el mundo (Villalobos *et al.* 2004, Halbert 2004), ya que las ninfas y los adultos ocasionan daños directos al succionar la savia de las hojas nuevas y peciolo, causando deformaciones características, que permiten identificar el daño de este insecto, lo que debilita y puede ocasionar la muerte de la planta; sin embargo, el daño más severo es el indirecto a través de la transmisión de la bacteria *Candidatus Liberibacter* agente asociado con la enfermedad Huanglongbing de los cítricos (Manjunath *et al.* 2008).

1.3.4 *Candidatus Liberibacter*

El HLB es la enfermedad de los cítricos más devastadora en el mundo (Xu *et al.* 1990, Bové 2006, Batool *et al.* 2007). En el continente Americano el HLB se reportó en San Paulo, Brasil en 2004, en Florida (EUA) en 2005 (Halbert y Núñez 2004, Halbert 2005), Cuba en 2007 (Salcedo *et al.* 2012), y México en 2009 (SENASICA 2012). En este último se encontró en el estado de Yucatán en árboles de traspatio, actualmente se encuentra en 16 regiones productoras del país. En cambio, la presencia de *D. citri* fue registrada por primera vez en el estado de Campeche en 2002, y su rápida dispersión ha cubierto toda la zona productora de cítricos del país (López-Arroyo *et al.* 2005). Se reconocen tres formas de *Candidatus Liberibacter*: asiaticus, africanus, y americanus (Sechler *et al.* 2009).

El insecto vector adquiere la bacteria al alimentarse de la planta infectada en un tiempo de 30 minutos, con un periodo de latencia de 7 a 10 días (Da Graça 1991, Hung *et al.* 2004), el

patógeno se hospeda y reproduce en las glándulas salivares del psílido (Chen 1998). Un estudio de microscopio electrónico de transmisión mostró que el patógeno invade las células del intestino medio y glándulas salivares, de esta forma se comprueba que se está replicando dentro del insecto hospedero (Xu *et al.* 1988); la bacteria cruza la pared intestinal vía hemolinfa y se replica en otros tejidos tales como tubos de malpigi, cuerpo graso, cerebro y órganos reproductivos para después llegar a las glándulas salivales, desde donde es transmitido a la planta (Xu *et al.* 1990, Batool *et al.* 2007, Alemán *et al.* 2007). La presencia de la bacteria *C. Liberibacter* bloquea los vasos del floema lo que impide la circulación de los nutrientes, cuya deficiencia se manifiesta en las hojas como una clorosis asimétrica lo que permite su detección visual (Da Graca 1990, Batool *et al.* 2007) misma que se corrobora mediante un análisis de PCR (Teixeira *et al.* 2005). El periodo latente en la planta de cítrico, antes de los síntomas, se expresa hasta ocho años, y finalmente si la planta infectada era joven muere hasta en un año (Gottwald *et al.* 2007)

1.3.5 Estrategia de combate del complejo PAC-HLB

Aunque el control directo de la bacteria solo se obtiene con la eliminación de plantas enfermas, esta práctica ha resultado poco efectiva, debido al carácter sistémico del patógeno y a su amplia distribución (Mora-Aguilar *et al.* 2013b). En México, se han definido dos escenarios epidemiológicos del HLB: (1) Región del Pacífico con la mayor intensidad y (2) Península de Yucatán con menor intensidad (Grupo Interdisciplinario de Investigaciones en PAC-HLB 2014). En ambos escenarios se establecen tres estrategias de control: 1) erradicación de la planta enferma, 2) control del vector, y 3) uso de material vegetal certificado, lo cual se ha realizado tradicionalmente en las zonas afectadas en el

mundo. El material vegetal certificado es el más complicado de realizar, debido a la problemática social que esto implica, ya que requiere medios voluntarios, normativos y mayores costos monetarios. Por lo que el OIRSA desarrolló para sus países miembros, los lineamientos de armonización normativa regional de certificación fitosanitaria de material propagativo de cítricos (Mora-Aguilar *et al.* 2013b).

A nivel piloto, en 2012, se implementó en varios estados de la República Mexicana una serie de estrategias para el manejo del HLB y su vector, las cuales son coordinadas por el área oficial en materia de sanidad vegetal, el SENASICA. La tendencia actual es el establecimiento de áreas regionales de control de *D. citri*. Dichas áreas se denominan “ARCO’s”, son áreas regionales para el manejo del HLB y el PAC, y tiene como base criterios biológicos y epidemiológicos de estos patosistemas. Una de las recomendaciones para intensificar el control del vector del HLB en las ARCO’s es mediante la aplicación del control biológico (parasitoide, depredadores y entomopatógenos), se ha sugerido en cada región citrícola del país los momentos más oportunos para realizar las acciones del control químico, de manera regional, generalizada y coordinada (Mora-Aguilar *et al.* 2013a).

El control del PAC en México, se realiza preferentemente en las zonas infectadas por HLB (Bové 2006), sin descuidar las zonas libres de la enfermedad. En la estrategia de manejo se considera el monitoreo del PAC tomando en cuenta el desplazamiento de los adultos, se dispersa de 25 a 50m (Gottwals *et al.* 2007), ya que se movilizan de una huerta a otra mediante vuelo directos y/o por y por el viento, aunque tienen la capacidad de desplazarse 100 metros en 3 días (Boina *et al.* 2009). Por esto, se requiere establecer medidas de control del vector y evitar que siga transmitiendo la bacteria en huertas sanas (SENASICA 2012).

1.3.6 Métodos de control del PAC

El manejo del PAC se realiza tradicionalmente con el control químico, utilizando insecticidas con acción de contacto y de acción sistémica, además de aceites derivados del petróleo. De acuerdo a la estrategia de manejo implementada en México, en cada región se seleccionan los insecticidas de acuerdo al grupo toxicológico al que pertenecen, con el objetivo de reducir problemas de resistencia (Tiwari *et al.* 2011). En México, se han probado insecticidas sobre el psílido con una eficiencia del 80% y una residualidad variable de 7 a 35 días en campo. Los insecticidas sistémicos recomendados para combatir las poblaciones del PAC son; aldicarb, dimetoato, metamidofos, monocrotofos, ometoato, acefato, imidacloprid, thiamethoxam, spirotetramat y espinoteram (Sohail y Rasah 2004, Cortez-Mondaca *et al.* 2010). Por lo general, los productos químicos reducen las poblaciones de la plaga temporalmente y su aplicación afecta la presencia de depredadores y parasitoides (Cerna *et al.* 2012). Esto dificulta estrategias de manejo, especialmente con los parasitoides, ya que los depredadores han resultado más tolerantes a productos químicos (Croft 1990).

1.3.7 Control biológico

El control biológico es un componente importante en la estrategia regional de manejo de plagas citrícolas, con la ventaja de poder implementarse en áreas urbanas, rurales y en los agroecosistemas. En México, los agentes de control biológico utilizados en la campaña Manejo del Huanglongbing (HLB) mediante el control de poblaciones del vector *Diaphorina citri*, incluyen parasitoides y depredadores, de los cuales se ha observado que

Tamarixia radiata (Waterston) (1922) (Hymenoptera: Eulophidae) (Vizcarra-Valdez *et al.* 2013) muestra resultados positivos en áreas urbanas, huertos orgánicos, y en lugares de difícil acceso, donde la aplicación de insecticidas presenta complicaciones (López-Arroyo *et al.* 2008, Sánchez *et al.* 2011, Cortez-Mondaca *et al.* 2011); por otro lado, otros agentes de control biológicos como algunos redúvidos y coccinélidos han mostraron poco o ningún efecto sobre el control del PAC (Navarrete *et al.* 2014). En cambio, los neurópteros se han reportado con alta capacidad de depredación y reproducción en diferentes plagas de importancia económica, los cuales tiene como ventaja que se crían masivamente en laboratorios de organismos benéficos en varias zonas de la República Mexicana, de los cuales se encuentran algunas especies de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa*.

1.3.8 Neurópteros como agentes de control biológico en plagas de cítricos

La familia Chrysopidae agrupa a los insectos más abundantes del orden Neuroptera, está conformada de 1200 especies a nivel mundial, distribuidas en 75 géneros y 11 subgéneros (New 1975, Adams y Penny 1987, Pappas *et al.* 2011). En México, se han identificado 82 especies de crisopas pertenecientes a 13 géneros y cinco subgéneros (Valencia 2004, Valencia *et al.* 2006). Las larvas depredan vorazmente a su presa, por lo que se han convertido en uno de los insectos benéficos más exitosos en programas de control biológico (López-Arroyo *et al.* 2007); 22 géneros de los 75 que existen en el mundo, presentan potencial como agentes de control biológico (Ramírez-Delgado 2007, López-Arroyo *et al.* 2007), y 126 especies están relacionados a diferentes cultivos, 19 son de cultivos bajos como; frijol, cacahuete, chile, entre otros, y 20 a árboles frutales como; nogal pecanero, vid, manzano y cítricos (Ramírez-Delgado 2007). En este último se ha reportado la presencia de

14 especies de crisópidos asociados a diversos insectos fitófagos (Duelli 2001). No obstante, varios autores mencionan que los estudios de diversidad de crisópidos en frutales del país son escasos (Crespo *et al.* 1990, Vázquez y Muñoz 2000, López-Arroyo 2001, Valencia *et al.* 2006). Cortez-Moncada *et al.* (2011) señalan que algunas especies de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* presentan un potencial como agentes de control de *Diaphorina citri*. El uso de especies nativas, como las crisopas, permiten una mejor adaptación al ambiente, en comparación con las especies introducidas de otras regiones (Valencia *et al.* 2006, Van Driesche *et al.* 2007). Aunado a esto, la utilización de algunas especies de la familia Chrysopidae en zonas citrícolas, permitirá ampliar el conocimiento biológico del depredador como agentes potenciales para el control del PAC.

CAPÍTULO II.

Preferencia de tamaño de presa de seis especies de Chrysopidae (Neuroptera) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)

2.1 INTRODUCCIÓN

Diaphorina citri (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Liviidae), es el principal vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., patógeno asociado a la enfermedad de los cítricos conocida como Huanglongbing (HLB) (Xu *et al.* 1990; Huang *et al.* 1990, Bové 2006, Batool *et al.* 2007), y considerada como la enfermedad más devastadora de este cultivo (De Graca 1991, Bové 2006, Gottwald 2010). El patógeno predominante en el Continente Americano es *Ca. L. asiaticus* (Bassanezi *et al.* 2011), su presencia en la citricultura mexicana fue confirmada en julio de 2009 (SENASICA 2012) y a 6 años de haberse detectado, se encuentra distribuido en 16 de 24 estados citrícolas del país (SENASICA 2015). En México el psílido asiático de los cítricos (PAC) es el único vector reconocido de esta enfermedad (SENASICA 2012) y su manejo se realiza mediante un esquema regional que integra al control químico, cultural y biológico (Flores *et al.* 2010). Este último se realiza por medio de la liberación masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (1922) (Hymenoptera: Eulophidae) (Vizcarra-Valdez *et al.* 2013) en áreas urbanas, huertos orgánicos, y en lugares de difícil acceso para realizar aplicaciones de insecticidas (Sánchez *et al.* 2011). López-Arroyo *et al.* (2008) y Cortez-Mondaca *et al.* (2011) han señalado la presencia de numerosos depredadores que atacan a *D. citri* en plantaciones de cítricos, entre los que sobresalen algunas especies de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae).

Las larvas de crisópidos son utilizadas en el control biológico de diversas plagas en campos e invernaderos de diferentes regiones del mundo (Tauber *et al.* 2000, New 2001, Huang y Enkergaardn 2010). Especies como *C. rufilabris* (Burmeister) y *Ce. valida* (Banks) presentan tolerancia a insecticidas (Hurej y Dutcher 1994, Michaud 2004, Gonzáles 2014), así mismo han registrado una capacidad de depredación sobre *D. citri* en laboratorio y campo (Cortez-Mondaca *et al.* 2011, Pacheco-Rueda *et al.* 2012), que es una característica de interés como potenciales agentes de control biológico contra el PAC. Para proporcionar mayor sustento experimental, en el presente estudio se exploró la preferencia de presa en las especies *Chrysoperla comanche* (Banks 1938), *Chrysoperla externa* (Hangen 1861), *C. rufilabris* (Burmeister 1839), *Ceraeochrysa cincta* (Schneider, 1851), *Ce. claveri* (Navas 1911) y *Ce. valida* (Banks 1895) sobre los distintos ínstares ninfales de *D. citri*.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron de mayo de 2012 a mayo de 2013 en el Departamento de Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), SENASICA, SAGARPA, ubicado en Tecomán, Colima, México. Las crías de los depredadores y las unidades experimentales se mantuvieron en condiciones controladas [25 ± 2°C con 60-70% de HR y un fotoperiodo de 16:8 h (L: O)].

2.2.1 Depredador y presa

Las evaluaciones de crisópidos incluyeron seis de las especies que se encuentran con mayor frecuencia en cítricos de México: *Chrysoperla externa*, *C. rufilabris*, *C. comanche*, *Ceraeochrysa cincta*, *Ce. claveri* y *Ce. valida*. La cría de las primeras cuatro especies se

inició con especímenes provenientes de colonias establecidas en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo Experimental, General Terán, Nuevo León; mientras que el material parental de *Ce. valida* fue proporcionado por el Laboratorio de Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), de un pie de cría establecido desde 2011; finalmente la cría de *Ce. claveri* se inició en abril del 2013 con individuos colectados en huertos de limón mexicano, en Tecomán, Colima.

Los adultos de crisopas se criaron en cilindros de PVC (25 cm de alto y 12 cm de diámetro), siguiendo la metodología de Alexander *et al.* (2001) y alimentándolos con una dieta artificial (Hassan y Hagen 1978) y agua provista en una esponja. Para facilitar la cría y evitar canibalismo entre larvas, los huevos depositados en los cilindros se colocaron individualmente en celdas plásticas (1 cm³ por celda) de rejillas de 100 celdas c/u, éstas se cubrieron y pegaron con tela organdí por ambas caras de la rejilla. Las larvas se alimentaron exclusivamente de huevo refrigerados de *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1789) (Lepidoptera: Gelechiidae) proporcionados cada tercer día sobre la tela que cubría la rejilla. Las ninfas de PAC utilizadas en los experimentos, se obtuvieron de una cría establecida desde 2009 en condiciones de invernadero dentro de las instalaciones del CNRCB sobre plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack. (Sapindales: Rutaceae) sin aplicaciones de insecticidas. El proceso de producción de la plaga se describe en Sánchez-González y Arredondo-Bernal (2011).

2.2.2 Condiciones generales de los experimentos

La arena experimental consistió en una caja Petri de plástico (4 cm) con tres perforaciones laterales (0.5 cm), cubiertas con tela organdí para permitir la ventilación. En el interior de la caja Petri se colocó un disco de papel filtro humedecido, sobre el cual se colocó un disco de 4 cm de diámetro de hoja de limón persa, *Citrus aurantifolia* (Christm) (Sapindales: Rutaceae) obtenidas de árboles libres de aplicación de insecticidas. Dentro de esta arena se colocaron ninfas del PAC, cuya cantidad dependió del tratamiento a evaluar. La arena se complementó con una larva de crisopa de 24 a 48 h de edad (el ínstar dependió del tratamiento a evaluar) y con ayuno por 6 h antes de iniciar el experimento. La presa se proporcionó solo una vez, por lo que no existió reemplazo de alimento. Los experimentos se realizaron en dos bloques, en el primero se trabajaron las especies de *Chrysoperla* y en el segundo las de *Ceraeochrysa*. Debido a esto, las comparaciones estadísticas se realizaron sólo entre especies del mismo género. El criterio de consumo para todos los experimentos consistió en que los organismos presa (ninfas) presentaran signos evidentes de depredación, y/o sin movilidad en respuesta a un estímulo mecánico a través del contacto de las cerdas de un pincel.

2.2.3 Experimento 1. Sin opción de presas.

El diseño experimental fue completamente al azar, se incluyeron nueve tratamientos con 10 repeticiones. Cada tratamiento consistió de la combinación de una larva del depredador y un tamaño de presa, dichos tamaños se establecieron con base en el estado de desarrollo del insecto: a) ninfas pequeñas (ínstar I y II), b) ninfas medianas (ínstar III y IV) y c) ninfas grandes (ínstar V). Adicionalmente, se estableció un testigo de cada tamaño de presa excluyendo al depredador para descartar mortalidad debido a manipuleo. En cada unidad

experimental, se colocaron 90 ninfas del PAC con un pincel de cerdas finas sobre la superficie del disco de hoja de cítrico. Se consideraron 15 minutos para su establecimiento sobre la superficie de dicho disco; posteriormente, se introdujo la larva de crisopa en cada caja Petri. Los organismos se mantuvieron en condiciones controladas durante 6 h, luego se retiraron los crisópodos para poder contabilizar las presas depredadas.

2.2.4 Experimento 2. Opción de presa.

Se utilizó un diseño completamente al azar se incluyeron nueve tratamientos que resultaron de la combinación de los tres instares larvales con las tres especies de crisopas por género. La preferencia de presa (índice de Manly's) de cada instar larval de crisopa se evaluó con todo los instares ninfales del PAC ofrecidos simultáneamente en la misma arena. Para ello, en cada unidad experimental se colocaron 18 individuos de cada instar ninfal (90 individuos totales), posteriormente se dejó un lapso de 15 min para que se establecieran las ninfas sobre la superficie del disco. En seguida se introdujo una larva del depredador de primer, segundo o tercer instar; adicionalmente, se estableció un grupo testigo que consistió en 18 ninfas de cada instar del PAC sin el depredador. Tanto el tratamiento como su testigo contaron con 10 repeticiones. Los organismos se introdujeron en una cámara bioclimática por 6 h, luego se retiraron las crisopas para poder contabilizar las presas depredadas.

2.2.5 Análisis estadístico.

Para el experimento 1 (sin opción de presa), el análisis de datos de consumo se realizó mediante el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute 2004). Los residuales del modelo estimado se utilizaron para comprobar los supuestos de normalidad, posteriormente se realizó una transformación arcoseno de los porcentajes de consumo para cumplir con los

supuestos del modelo. El consumo total de presas por cada ínstar larval se analizó mediante un ANOVA; seguida de una prueba de separación de medias de Tukey ($\alpha = 0,05$).

El análisis estadístico del segundo experimento de opción, se realizó mediante el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute 2004). La preferencia de presa se analizó a través del cálculo del índice de preferencia de Manly's (β), con la ecuación propuesta por Huang y Enkegaard (2010):

$$\beta_1 = \frac{\text{Log}(e_1 / A_1)}{\text{Log}(e_1 / A_1) + \text{Log}(e_2 / A_2) + \text{Log}(e_3 / A_3) + \text{Log}(e_4 / A_4) + \text{Log}(e_5 / A_5)}$$

Donde,

β_1 = preferencia de presa de tipo 1, e_1 al e_5 = número de presas restantes de Tipo 1 al Tipo 5 del tratamiento. A_1 a A_5 = número de presas ofrecidas de Tipo 1 al Tipo 5, el cual correspondía a los cinco ínstares ninfales del PAC.

Se realizó una prueba individual no paramétrica de signo, para cada índice, donde la prueba de hipótesis fue; $H_0: \beta < 0.20$, el cual indica sin preferencia de presa entre los ínstares ninfales y $H_a: \beta \geq 0.20$, este indica que existe preferencia ($\alpha = 0,05$).

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Preferencia de presa en *Chrysoperla*

Los tres instares larvales de las especies de *Chrysoperla* evaluadas se alimentaron de todos los tamaños de ninfas de *D. citri* ofrecidos ($P < 0.001$). Los resultados de la prueba de no opción mostraron que en la mayoría de las combinaciones existió diferencias significativas, en el número de presas consumidas, donde *C. externa*, con frecuencia, presentó valores superior a las otras dos especies. El tercer instar larval, en todas las especies depredadoras, fue la más voraz en consumir ninfas de tamaño mediano y grande del PAC. La cantidad de presas pequeñas consumidas en casi todas las especies de *Chrysoperla* fue mayor conforme se incrementó el estado de desarrollo de la larva; excepto en *C. externa* donde el consumo por tamaño de larvas no se detectó diferencias significativas (Cuadro 1). Las larvas de primer instar depredaron menos de 71% de las 90 presas ofrecidas en 6 h, mientras que las larvas del tercer instar consumieron más de 86% de las presas ofrecidas. El consumo de presas medianas presentó diferencias, registrándose que el tercer instar larval de las especies de *Chrysoperla*, depredaron la mayor cantidad de presas (\geq a 75 ninfas), lo cual no difirió entre las tres especies ($P= 0.01$).

En presencia de ninfas grandes, la diferencia en consumo fue notoria entre los diferentes instares larvales; las larvas del tercer instar consumieron más de 80% de las presas ofrecidas, lo que contrasta con el consumo de las larvas del primer instar que fue \geq a 42% del total de estas presas ofrecidas.

Cuadro 1. Consumo por larvas de *Chrysoperla* sobre tres tamaños de presas de *Diaphorina citri* en un periodo de 6 h en condiciones controladas [$25 \pm 2^\circ\text{C}$ con 60-70% de HR, fotoperiodo de 16:8 h (L: O)].

Tamaño de presa	Larvas	ninfas depredadas (Media \pm EE)			
		<i>C. rufilabris</i>	<i>C. externa</i>	<i>C. comanche</i>	
Pequeñas (Ninfa I y II)	L1	75.8 \pm 1.6 bB	83.7 \pm 0.6 abA	71.4 \pm 2.3b B	F=13.73 P<0.0001
	L2	79.4 \pm 1.5 abA	82.8 \pm 1.0 abA	68.0 \pm 2.8 bB	F=16.13 P<0.0001
	L3	84.7 \pm 0.93 aB	88.7 \pm 0.3 aA	85.8 \pm 0.6a B	F=9.62 P<0.0007
Medianas (Ninfa III y IV)	L1	52.6 \pm 2.3 dB	63.6 \pm 1.7 eA	55.1 \pm 2.3cB	F=7.03 P<0.0001
	L2	63.4 \pm 2.4 cA	70.5 \pm 1.8 deA	43.8 \pm 3.5 dB	F=27.46 P<0.0001
	L3	75.5 \pm 1.8 bA	80.9 \pm 1.7 bcA	77.4 \pm 1.6abA	F=2.57 P<0.0955
Grandes (Ninfa V)	L1	38.2 \pm 1.9 eA	35.7 \pm 1.6 gA	28.3 \pm 2.0 eB	F=7.65 P<0.0023
	L2	49.4 \pm 2.2 dAB	53.9 \pm 2.6 fA	41.4 \pm 3.1 dB	F=5.46 P<0.0102
	L3	73.5 \pm 2.1 bA	75.3 \pm 1.3 cdA	70.6 \pm 2.4 bA	F=1.35 P>0.2769
		F=67.18 P<0.0001	F=115.33, P<0.0001	F=61.14 P<0.0001	

Valores dentro de la misma columna seguida por letras minúsculas iguales no son significativamente diferentes entre tamaño de presa. Valores dentro de la misma fila seguidos por letras mayúsculas iguales no son significativamente diferentes entre especies (Tukey con $\alpha=0,05$).

2.3.2 Índice de preferencia de presa en *Chrysoperla*.

Las larvas de todas las especies de *Chrysoperla* estudiadas presentaron diferencias significativas en la preferencia de la presa ($P < 0.0001$) con base en el índice de Manly's (β). Las larvas de las tres especies prefirieron alimentarse de la ninfa I y II de *D. citri*. El índice de preferencia presentó un valor más equilibrado en el tercer ínstar larval, que osciló entre 0.13 a 0.30; mientras que en el primer ínstar larval varió entre 0.02 a 0.42, y el segundo ínstar larval fue de 0.03 a 0.38 (Cuadro 2). Las larvas de *C. rufilabris* prefirieron alimentarse de ninfas pequeñas, mientras que en *C. externa*, se registró una preferencia general por ninfas I y II, aunque la larva de segundo ínstar también mostró una preferencia hacia ninfa III.

Cuadro 2. Preferencia en el consumo de presa de acuerdo con el índice de Manly's (β) para tres especies de *Chrysoperla* sobre los cinco instares ninfales de *D. citri*.

Larvas	Ninfas	Índice de preferencia de Manly's (Media \pm E.E)		
		<i>C. rufilabris</i>	<i>C. externa</i>	<i>C. comanche</i>
L1	I	0.35 \pm 0.03*	0.35 \pm 0.03*	0.42 \pm 0.06*
	II	0.34 \pm 0.02*	0.32 \pm 0.03*	0.26 \pm 0.06*
	III	0.16 \pm 0.04	0.17 \pm 0.01	0.15 \pm 0.04
	IV	0.10 \pm 0.02	0.11 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01
	V	0.04 \pm 0.01	0.02 \pm 0.007	0.05 \pm 0.02
L2	I	0.36 \pm 0.05*	0.38 \pm 0.06*	0.33 \pm 0.06*
	II	0.29 \pm 0.04*	0.27 \pm 0.06*	0.20 \pm 0.05*
	III	0.14 \pm 0.04	0.20 \pm 0.01*	0.16 \pm 0.03
	IV	0.12 \pm 0.03	0.09 \pm 0.02	0.16 \pm 0.05
	V	0.07 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.13 \pm 0.06
L3	I	0.30 \pm 0.05*	0.25 \pm 0.03*	0.29 \pm 0.04*
	II	0.26 \pm 0.03*	0.24 \pm 0.01*	0.21 \pm 0.03*
	III	0.16 \pm 0.06	0.18 \pm 0.04	0.14 \pm 0.03
	IV	0.13 \pm 0.02	0.14 \pm 0.01	0.16 \pm 0.05
	V	0.13 \pm 0.03	0.17 \pm 0.04	0.19 \pm 0.06

Medias de los índices con asterisco denotan preferencia significativa ($\alpha=0,05$), con la prueba no paramétrica del signo. Ho: $\beta < 0,20$, el cual indica que no hay preferencia de presa, y Ha: $\beta \geq 0,20$, el cual indica que hay preferencia.

2.3.3 Preferencia de la presa en *Ceraeochrysa*

Los instares larvales de las tres especies de *Ceraeochrysa* presentaron diferencias en el consumo de ninfas de *D.citri* solo de las medianas y grandes ($P < 0.001$) (Tabla 3). En las tres especies de *Ceraeochrysa* se registró que la larval dos, las tres especies consumieron por igual las ninfas de todos los tamaños. En ambas especies de *Ce. cincta* y *Ce. claveri* el tercer instar larval fue el más voraz en las pruebas sin opción de presa al ofrecerle ninfas pequeñas (consumo $> 82\%$) y grandes (72%). En tanto que las larvas del primer y tercer instar de *Ce. valida* consumieron prácticamente el mismo número de ninfas pequeñas ($> 87\%$), medianas ($> 65\%$) y grandes ($> 43\%$). Al comparar el consumo de presas de tamaño similares dentro del mismo instar larval del depredador, se destaca que *Ce. valida* fue la especie que presentó los consumos más bajos de presas; incluso en presencia de presas grandes la larva tres de *Ce. valida* depredó 50% menos que las otras especies.

Cuadro 3. Consumo por tres especies de larvas de *Ceraeochrysa* sobre tres tamaños de presas de *Diaphorina citri* en un periodo de 6 h.

Tamaño de presa	Larvas	ninfas depredadas (Media \pm EE)			
		<i>Ce. valida</i>	<i>Ce. cincta</i>	<i>Ce. claveri</i>	
Pequeño (Ninfa I y II)	L1	78.7 \pm 1.7a B	86.1 \pm 1.5 abA	79.3 \pm 1.8bB	F=5.53 P<0.0097
	L2	81.5 \pm 0.8 aA	85.2 \pm 1.6 abA	81.8 \pm 2.1 abA	F=1.53 P>0.2340
	L3	81.2 \pm 1.4 aB	87.9 \pm 0.9aA	88.2 \pm 0.4 aA	F=14.78 P<0.000
Mediano (Ninfa III y IV)	L1	58.9 \pm 2.0 bcA	48.3 \pm 3.2 deB	44.6 \pm 1.8 dB	F=8.99 P<0.0010
	L2	55.7 \pm 1.0 cA	53.3 \pm 2.6 dA	55.8 \pm 2.4 cA	F=0.42 P>0.6608
	L3	67.3 \pm 1.5 bB	70.6 \pm 4.1cAB	78.4 \pm 1.6 bA	F=4.41 P<0.0220
Grande (Ninfa V)	L1	42.5 \pm 2.8 dA	40.2 \pm 4.0 eA	38.1 \pm 2.3 dA	F=0.49 P>0.6204
	L2	45.8 \pm 1.4 dB	46.9 \pm 2.5 deAB	53.8 \pm 2.1 cA	F=4.30 P<0.0239
	L3	39.0 \pm 2.7 dB	73.8 \pm 2.3 bcA	76.0 \pm 1.5 bA	F=83.23 P<0.000
		F=80.63, P<0.0001	F=46.1, P<0.0001	F=90.7, P<0.0001	

Valores dentro de la misma columna seguida por letras minúscula iguales no son significativamente diferentes en el consumo de los diferentes tamaños de presa. Valores dentro de la misma fila seguidos por letras mayúscula iguales no son significativamente diferentes entre especies; Tukey ($\alpha=0,05$).

2.3.4 Índice de preferencia de presa en *Ceraeochrysa*

En las pruebas de opción de presa, el consumo de ninfas de *D.citri* por ínstar fue diferente entre las especies de *Ceraeochrysa* ($P < 0.001$). Los diferentes ínstares larvales de las tres especies del depredador presentaron una tendencia a depredar ninfas I y II. El tercer ínstar larval de todas las especies registró variaciones en el consumo de presas; por ejemplo, en *Ce. cincta* presentó un índice de 0.21 en ninfa I y ninfa V, y la menor preferencia se registró en ninfa II (0.17). En *Ce. valida* se determinó un índice de preferencia de 0.11 sobre la presa menos preferida (ninfa IV) y 0.34 en la más preferida (ninfa I); en cambio, *Ce. claveri* fue de 0.15 sobre la presa menos preferida (ninfa III y IV) y 0.34 en la más preferida (ninfa I). Por otro lado, las variaciones en los índices de preferencia fueron más marcadas en las larvas del primer ínstar de las tres especies, en donde *Ce. valida* registró un índice de preferencia de 0.03, en comparación con el valor triplicado de *Ce. claveri* (0.09), ambas en ninfas V (Cuadro 4).

Cuadro 4. Preferencia en el consumo de presa de acuerdo con el de índice de Manly's (β) para tres especies de *Ceraeochrysa* sobre los cinco instares ninfales de *D. citri*.

Larvas	Ninfas	Índice de preferencia de Manly's (Media \pm E.E)		
		<i>Ce. valida</i>	<i>Ce. cincta</i>	<i>Ce. claveri</i>
L1	NI	0.37 \pm 0.00*	0.34 \pm 0.05*	0.47 \pm 0.03*
	NII	0.33 \pm 0.04*	0.31 \pm 0.04*	0.23 \pm 0.02*
	NIII	0.16 \pm 0.04	0.21 \pm 0.06*	0.19 \pm 0.03
	NIV	0.11 \pm 0.02	0.10 \pm 0.04	0.09 \pm 0.04
	NV	0.03 \pm 0.01	0.04 \pm 0.02	0.09 \pm 0.01
L2	NI	0.33 \pm 0.05*	0.35 \pm 0.05*	0.37 \pm 0.02*
	NII	0.29 \pm 0.05*	0.27 \pm 0.03*	0.24 \pm 0.02*
	NIII	0.19 \pm 0.04	0.17 \pm 0.05	0.16 \pm 0.03
	NIV	0.10 \pm 0.01	0.15 \pm 0.06	0.11 \pm 0.03
	NV	0.07 \pm 0.02	0.06 \pm 0.01	0.09 \pm 0.03
L3	NI	0.34 \pm 0.02*	0.21 \pm 0.01*	0.32 \pm 0.08*
	NII	0.25 \pm 0.06*	0.17 \pm 0.02	0.20 \pm 0.03*
	NIII	0.17 \pm 0.04	0.19 \pm 0.03	0.15 \pm 0.04
	NIV	0.11 \pm 0.04	0.18 \pm 0.03	0.15 \pm 0.03
	NV	0.14 \pm 0.03	0.21 \pm 0.01*	0.18 \pm 0.04

Medias de los índices con asterisco denotan preferencia significativa ($\alpha= 0.05$), con la prueba no paramétrica del signo. Ho: $\beta < 0.20$, el cual indica que no hay preferencia de presa, y Ha: $\beta \geq 0.20$, el cual indica que hay preferencia.

2.4 DISCUSIÓN

Las especies de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* fueron capaces de alimentarse de todos los tamaños de ninfas del PAC ofrecidos; sin embargo, ambos géneros presentaron diferencia significativa en los niveles en depredación de los instares ninfales de *D. citri*, aunque mostraron una respuesta similar respecto a su preferencia hacia presas pequeñas del PAC (ninfas I y II). El consumo de presas pequeñas aumentó gradualmente conforme aumentó el tamaño del depredador, registrando que el tercer instar larval consumió más de 70 ninfas en las 6 h que duró el experimento, lo cual entra en los rangos indicados para otros crisópidos, donde también se menciona que este instar se alienta vorazmente (Principi y Canard 1984, Chen y Lin 2001). *C. externa* fue la más voraz en sus tres estados larvales; la preferencia por ninfas pequeñas del PAC, podría explicarse por la facilidad de su manipuleo, lo que reduce el tiempo de consumo (Cortez *et al.* 2011, Milonas *et al.* 2011), y se relaciona con el nivel de saciedad del depredador (Albuquerque *et al.* 2012). Los resultados del presente estudio son

similares a los encontrados en estudios de este depredador *C. externa* con ninfas de *Cinara pinivora* (Wilson, 1919) y *Cinara atlantica* (Wilson 1919) (Hemiptera: Aphididae) (Cardoso y Lazzari 2003). Otras especies como *Chrysoperla carnea* es considera muy voraz al consumir el primer ínstar ninfal de *Phenacoccus solenopsis* Tinsley 1898 (Hemiptera: Pseudococcidae) (Khan *et al.* 2012).

Por otro lado, las ninfas grandes (IV y V) del PAC resultaron menos preferidas por las larvas del primero y segundo instar de cualquiera de las especies de crisópidos. En cambio, el tercer ínstar presentó una distribución más uniforme en la selección de presas al ofrecerles todos los estados de desarrollo del PAC; los resultados del presente estudio señalaron que *Ce. cincta*, *Ce. claveri* y *C. comanche* mostraron una tendencia en depredar ninfas grandes. Tal vez estas especies prefieren estos tamaños de ninfas de *D. citri* porque podrían saciarse más rápidamente con un menor número de especímenes (Albuquerque *et al.* 2012) y evitar así exponerse a enemigos naturales al reducir su tiempo de búsqueda, manipuleo y consumo de presas. De este grupo de especies, quizás las larvas de *Ceraeochrysa* (carga-basura) prefirieron ninfas grandes porque podrían utilizar sus restos para completar los paquetes de basura que integran el escudo o protección que las caracteriza (Tauber *et al.*, 2014). Otras explicaciones sobre la selección de tamaño de presa se relacionan con su morfología (Dixon 2000) y la capacidad de depredación para reconocer a la presa (Reddy 2002), la cual puede estar mediada por los volátiles de la presa, la planta o ambos (Dixon 2000, Reddy 2002, Mendel *et al.*2004). De acuerdo con Sherestha y Enkegrd (2013) la preferencia de presa puede atribuirse, en primer lugar, a que el depredador aminore su hambre, alimentándose de manera indistinta para satisfacer esta necesidad inmediata, y posteriormente realizará una selección por tamaños de la presa hasta alcanzar un cierto nivel de saciedad. La aceptación

de una presa no implica necesariamente que ésta es la más adecuada para el depredador, y pueda verse afectado en su desarrollo biológico (Lucas 1997).

En el presente estudio se observó que la larva del tercer ínstar de *Ce. valida* fue la que consumió menor cantidad de ninfas grandes, incluso cerca de 50% menos que las otras especies alimentadas con la misma dieta; sin embargo, trabajos en respuesta funcional (Pacheco-Rueda *et al.* 2013, datos no publicados) demostraron que el tercer ínstar larval de *Ce. valida* es tan voraz al depredar ninfas de *D. citri* como las demás especies de *Ceraeochrysa* estudiadas, por lo que la diferencia pudo deberse a otros factores no medidos en este estudio.

La capacidad de las especies evaluadas para alimentarse de todos los instares ninfales de *D. citri* da una clara idea de su potencial para incluirlas en un programa de control biológico del PAC. Las especies *C. externa*, *Ce. claveri* y *Ce. cincta* demostraron mayor voracidad de todos sus instares larvales, en donde su distribución y diversidad de hábitat en México es superior que otros crisópidos (Valencia *et al.* 2006, Ramírez 2007). Aunque debe considerarse que otras especies como *C. rufilabris* pudieran ser útiles en condiciones particulares de alta humedad, o en el caso de *C. comanche* utilizada en ambientes secos (Rice *et al.* 2001). Por el contrario, *Ce. valida*, aunque se reporta con frecuencia en cítricos, en el presente estudio, presentó un tiempo de manipuleo superior al resto de las especies estudiadas.

La presencia del PAC y su función como vector de uno de los patógenos más nocivos en la citricultura del mundial, demanda contar con alternativas al uso intensivo de los insecticidas utilizadas para su control (Yamamoto 2008). El uso de crisópidos en un programa de control

biológico de este insecto podría considerarse para complementar la acción de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), ectoparásitoide de ninfas específico, utilizado en programas de control biológico de *D. citri* en México, ya que esta avispa sólo parasita a los tres últimos instares ninfales del PAC (Sánchez *et al.* 2011). Lo anterior se sugiere ya que, el presente estudio mostró que las larvas de crisopas fueron más voraces sobre los primeros instares del PAC, por lo que es posible un efecto sinérgico o al menos una coexistencia entre estos dos grupos de enemigos naturales en el agroecosistema de cítricos. Para sustentar esto, es necesario evaluar estas especies bajo diferentes condiciones agroecológicas así como la interacción de algunas de las especies de crisópidos con el parásitoide en programas de liberaciones intercaladas según la disponibilidad del estado ninfal de *D. citri* susceptible o efectuar en laboratorio o invernadero estudios de interferencia entre ambos tipos de enemigos.

CAPÍTULO III.

Respuesta funcional de tres especies de *Chrysoperla* y tres de *Ceraeochrysa*

(Neuroptera: Chrysopidae) al alimentarse de ninfas de *Diaphorina citri*

(Hemiptera: Liviidae)

3.1 INTRODUCCIÓN

El psílido asiático de los cítricos (PAC), *Diaphorina citri* Kuwayama) es vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., causante de la enfermedad Huanglongbing (HLB) (De Graca 1991, Halbert y Majunatha 2004). Esta enfermedad es la más devastadora dentro de la citricultura mundial ya que se reporta la muerte de más de 65 millones de árboles en Asia, Sudáfrica y Brasil (Gottwald 2010, Bassanezi *et al.* 2011, Bové 2012), y hasta el momento se desconoce de medidas curativas efectivas para los árboles enfermos. Varios autores señalan que la relación que se establece entre el agente patógeno y su vector es sumamente compleja, la cual se debe entender para proponer mejores estrategias de manejo, debido a que el PAC continua dispersándose en todo el mundo (Batoool *et al.* 2007, da Graca 2008, García *et al.* 2013).

En México, la estrategia de manejo, al igual que en muchos países citrícolas, incluye la liberación del parasitoide *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) (SENASICA 2012), a pesar de que existe una diversidad de entomófagos presentes en los cultivos de cítricos, entre los que sobresalen algunas especies de coccinélidos de los géneros *Cycloneda*, *Harmonia* y *Olla* (Coleoptera: Coccinellidae) (Michaud y Olsen 2004) y de los crisópidos *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) (López-Arroyo *et al.* 2005, Cortez-Mondaca 2011). Estos últimos podrían tener un potencial como agentes de

control biológico de esta plaga ya que se tienen establecidas metodologías muy económicas para su producción masiva y se pueden adaptarse a las condiciones climáticas donde se cultivan los cítricos; sin embargo, se desconocen aspectos ecológicos y potenciales de cada una de las especies al alimentarse del PAC que permitan elegir la o las especies con mayor potencial para ser utilizadas como agentes de control biológico de la plaga. Uno de los métodos que pueden ayudar a tomar esta decisión es la respuesta funcional del depredador. Este método es útil para determinar la capacidad de depredación de un entomófago (Dixon 2002) a través de un tiempo determinado (Gitonga *et al.* 2002), donde el número de presas consumidas determina su desarrollo, supervivencia y reproducción (Fernández-Arhex y Corley 2004). Existen dos parámetros que caracterizan a la respuesta funcional y que determinan la forma de la curva de consumo; la tasa de búsqueda (el tiempo que tarda el depredador en localizar las diferentes densidades de presa) y el tiempo de manipuleo (el tiempo que gasta un depredador en someter y consumir una determinada presa) (Begon *et al.* 1996, Papanikolaous *et al.* 2014). La forma de la curva, donde el entomófago responde a los cambios de densidad de su presa, depende de estos dos parámetros (Trexler *et al.* 1988, Okuyama 2012).

Hasta el momento no se tienen estudios de cómo algunos crisópidos responden al ataque de acuerdo a densidades de la presa como el psílido asiático de los cítricos. Por lo anterior, el presente estudio se realizó con el objetivo evaluar la respuesta funcional de tres especies del género *Chrysoperla* y tres de *Ceraeochrysa* al alimentarse de estados inmaduros de psílido asiático de los cítricos.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Cría de insectos

Las ninfas de *D. citri*, se obtuvieron de una cría establecida en condiciones de invernadero dentro de las instalaciones del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), SENASICA, SAGARPA, ubicado en Tecomán, Colima, México sobre plantas de *Murraya paniculata* (L) Jack libres de aplicación de insecticidas. La cría de las crisopas se desarrolló en el departamento de Entomófagos del mismo CNRCB. Los adultos de las crisopas se criaron en cilindros de PVC de 25 cm de alto y 12 cm de diámetro, siguiendo la metodología de Alexander *et al.* (2001), y utilizando una dieta artificial con base en la fórmula de Hassan y Hagen (1978). Las larvas de los crisópidos, se aislaron individualmente dentro de rejillas de plástico (celdas de 1 cm³) para evitar canibalismo, y se le ofreció una dieta de huevos congelados de *Sitotroga cerealella* (Oliver) provenientes del laboratorio del CNRCB. Los experimentos se desarrollaron utilizando larvas del tercer instar de las especies *Chrysoperla externa* (Hangen), *Chrysoperla rufilabris* (Burmeister), *Chrysoperla comanche* (Banks), *Ceraeochrysa cincta* (Schneider), *Ceraeochrysa valida* (Banks) y *Ceraeochrysa claveri* (Navas). Las condiciones generales para la cría de crisópidos y el desarrollo del experimento se realizaron en una cámara bioclimática a 25±2°C con 60-70% de HR y un fotoperiodo de 6:8 (L: O)

3.2.2 Respuesta funcional: densidades de ninfas

La arena utilizada en los experimentos consistió en una caja Petri de plástico (4 cm de diámetro) con tres perforaciones laterales (0.5 cm) y tela de organdín para ventilación. En

el interior de la caja Petri se introdujo un disco de papel filtro humedecido y encima un disco (4 cm) de hoja de limón persa *Citrus aurantifolia* (Christm). Se establecieron siete tratamientos, cada uno con 10 repeticiones, que consistieron en las siguientes densidades de la presa; 8, 16, 32, 64, 128, 192 y 256 ninfas del tercero y cuarto ínstar (en proporción 50%:50%); además se utilizó un grupo control en cada tratamiento, en los cuales se excluyó a los crisópodos para cuantificar la supervivencia de las ninfas del PAC en ausencia del depredador. Las ninfas se colocaron sobre los discos foliares, y al terminar se introdujo en cada arena experimental una larva de crisopa de 24 a 48 h de edad, y con previo ayuno de 6 h, para asegurar el mismo tiempo de exposición con la presa. Las cajas Petri se introdujeron aleatoriamente en una cámara bioclimática durante 4 h (periodo establecido con base a pruebas preliminares) y posteriormente se retiraron los depredadores para contabilizar el número de presas, utilizando como criterio de consumo la presencia de signos evidentes de depredación o aquellos que no presentaban movilidad en respuesta a un estímulo mecánico, como fue el contacto de las cerdas de un pincel. Los experimentos se realizaron en dos grupos, en el primero se evaluaron las especies de *Chrysoperla* y posteriormente con las de *Ceraeochrysa*, las comparaciones estadísticas se realizaron dependiendo del tipo de respuesta funcional que presentó cada especie.

3.2.3 Análisis de datos

El número de presas consumidas (N_e) respecto de la densidad inicial ofrecida (N_o) de cada especie de crisópido, se analizó en dos fases siguiendo el procedimiento de Juliano (1993), utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute 2004). En la primera fase, se determinó el tipo de curva de respuesta de cada especie de crisópido mediante la

regresión logística sobre la proporción de consumo (N_e/N_o) ajustándose al modelo logístico polinomial de la ecuación 1:

$$\frac{N_e}{N_o} = \frac{\exp (P_o + P_1N_o + P_2N_o^2 + P_3N_o^3)}{1 + \exp(P_o + P_1N_o + P_2N_o^2 + P_3N_o^3)} \quad [1]$$

Donde,

N_e = número de presas consumidas, N_o = densidad inicial de presas, y P_o , P_1 , P_2 , y P_3 = parámetros estimados mediante la aplicación de la regresión logística (Proc logistic) en SAS. De acuerdo con la metodología de Juliano (1993) los signos positivos o negativos de los estimadores de los coeficientes: lineal (P_1), cuadrático (P_2), y cúbico (P_3) de la ecuación 1, son usados para la identificación del tipo de respuesta funcional. La designación para el tipo de respuesta ocurre en función de la significancia ($P \leq 0.05$) y el valor del estimador (+ o -). Si el estimador del parámetro lineal no es significativo, se sugiere un modelo de respuesta funcional de tipo I. Si el signo del estimador es negativo y significativo, se considera un modelo de tipo II, y si es positivo y significativo sugiere un modelo de tipo III.

Con base en las determinaciones de tipo de curva se inició la segunda fase del análisis para obtener los estimadores de los parámetros de la respuesta funcional, como el tiempo de manipuleo (T_h) y coeficiente de ataque (a). El modelo que se ajustó con la ecuación de Thompson (1924) y que reflejó una respuesta funcional de tipo I, explica que el consumo de presas aumenta de forma lineal, en el tiempo de evaluación, a una velocidad constante a medida que aumenta la densidad de presa.

$$Ne=No (1-exp-Na/No) \quad [2]$$

Donde,

Ne= número de presas consumidas, No= número de presas ofrecidas, y exp= la base del logaritmo natural. En este caso, el parámetro que se obtuvo con esta ecuación fue el de tiempo de búsqueda (b), por lo que no se puede comparar entre las demás especies que resultaron de tipo II, ya que en el modelo de respuesta funcional tipo I se carece de tiempo de manipuleo (Th). Para la respuesta funcional de tipo II se usó la ecuación de Rogers (1972), comúnmente conocida como la ecuación de depredadores al azar.

$$Ne=No (1-exp^{-a' Tt + a' Th Na}) \quad [3]$$

Donde,

Ne= número de presas consumidas, No= número de presas ofrecidas, exp= la base del logaritmo natural, a'= la constante de ataque, Th = tiempo de manipuleo, y Tt= tiempo total de exposición depredador/presa. Posteriormente, la proporción de consumo (Ne/No) del número de ninfas consumidas entre densidades del PAC y especies de crisópidos se evaluó con un ANOVA usando el programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute 2004). Por otro lado, se realizó un ANOVA para comparar las medias de consumo entre especie y cada densidad de presa, con una prueba de Tukey.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Respuesta funcional de *Chrysoperla. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida*

Las especies *Chrysoperla. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* alimentadas con ninfas de *D. citri* presentaron una respuesta tipo II, con base al coeficiente lineal negativo y significativo ($p=0.001$) (Cuadro 5). El coeficiente de ataque (a) en *C. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* fue 0.587, 0.374 y 0.221, respectivamente; el tiempo de manipuleo (Th) fue de 0.012, 0.014 y 0.002 horas, respectivamente (Cuadro 6).

Cuadro 5. Análisis de la regresión logística de la proporción de ninfas del PAC consumidas por *C. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* (respuesta funcional tipo II).

Parámetros/especie	Estimadores \pm EE	df	Valor C^2	P
<i>C. rufilabris</i>				
intercepto	4.39 \pm 0.315	1	194.34	<0.0001
lineal	-0.072 \pm 0.007	1	86.58	<0.0001
cuadrático	0.0004 \pm 0.00005	1	78.76	<0.0001
cúbico	-1.05 \pm 1.18	1	79.08	<0.0001
<i>C. comanche</i>				
intercepto	2.93 \pm 0.224	1	170.34	<0.0001
lineal	-0.043 \pm 0.005	1	56.45	<0.0001
cuadrático	0.0002 \pm 0.00004	1	35.12	<0.0001
cúbico	-4.94 \pm 9.34	1	27.97	<0.0001
<i>Ce. valida</i>				
intercepto	3.90 \pm 0.236	1	272.01	<0.0001
lineal	-0.090 \pm 0.006	1	220.02	<0.0001
cuadrático	0.0006 \pm 0.00004	1	196.14	<0.0001
cúbico	-1.27 \pm 9.57	1	177.21	<0.0001

Cuadro 6. Coeficiente de ataque (a) y Tiempo de manipuleo (Th) de la respuesta funcional tipo II de *C. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* a diferentes densidades de ninfas del PAC.

Parámetros	Estimadores ± EE	Intervalos	Coeficiente Aproximado 95%
<i>C. rufilabris</i>			
a	0.587±0.0625	0.4581	0.7074
Th	0.012±0.0014	0.0097	0.0156
<i>C. comanche</i>			
a	0.374±0.0285	0.3180	0.4317
Th	0.0139±0.0014	0.0110	0.0168
<i>Ce. valida</i>			
a	0.2216±0.0196	0.1825	0.2607
Th	0.0016±0.0027	0.0037	0.0070

La proporción de consumo de ninfas del PAC por *C. rufilabris* y *C. comanche* fueron altas (98 y 93 % respectivamente) y permanecieron constantes en las densidades 16 y 32, posteriormente disminuyó hasta 0.8, en cambio *Ce. valida* presentó una proporción de consumo de 85 % a partir de la densidad 64 la proporción fue constante (Figura 1). El consumo de ninfas en cada densidad presentó diferencias significativas entre *C. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* ($P < 0.001$), cuya depredación aumentó gradualmente con el aumento de la densidad de la presa por especie. *Ce. valida* consumió 43% y 52% menos ninfas en las densidades 64 y 128, respectivamente, a diferencia de las dos restantes. Por otro lado, *Chrysoperla rufilabris* fue el crisópido que consumió hasta 164 ninfas en una densidad de 256 ninfas ofrecidas (Cuadro 7).

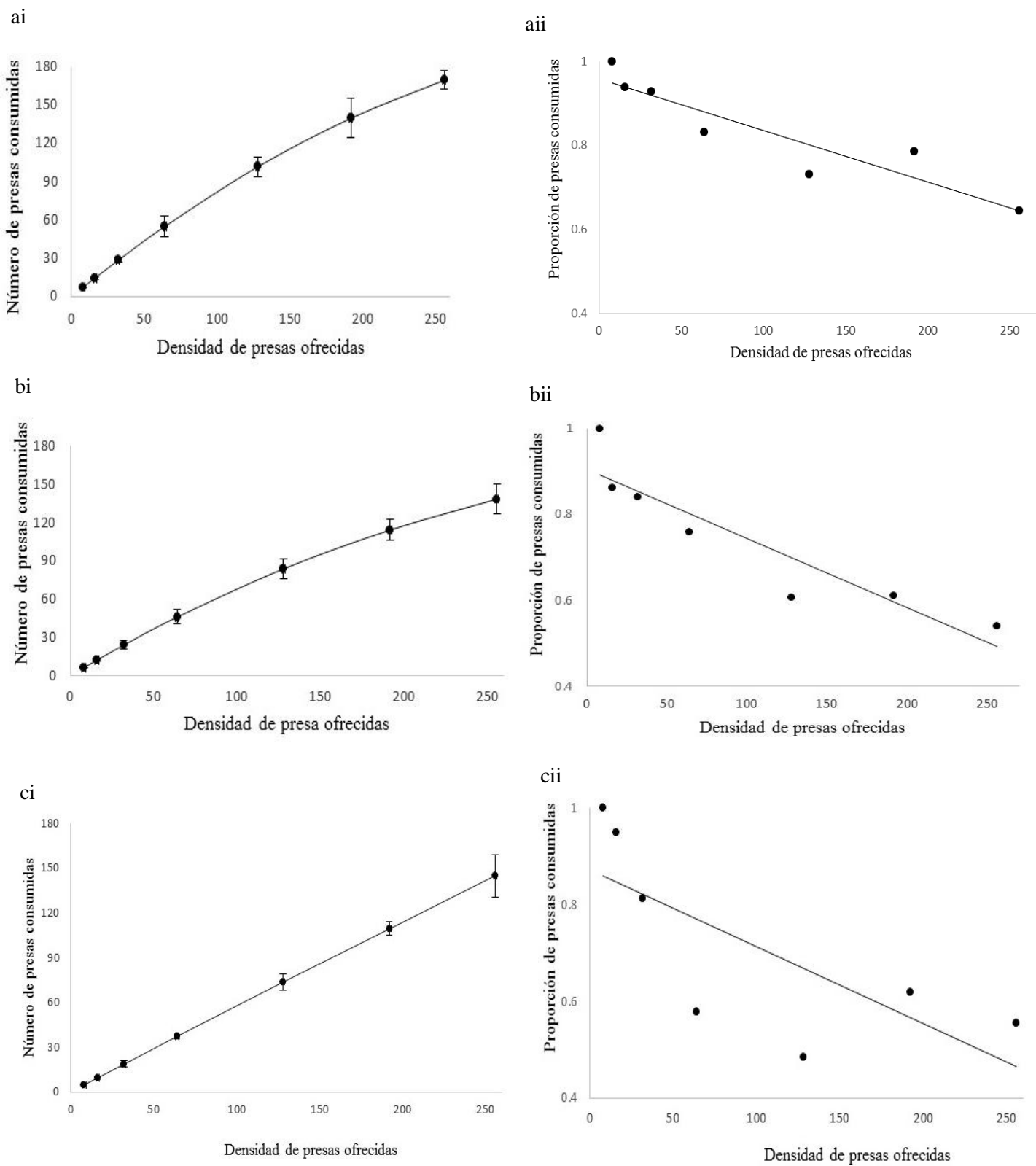


Fig. 1. Respuesta funcional tipo II de (a) *C. rufilabris*, (b) *C. comanche*, (c) *Ce. valida*.

Medias (\pm EE) de ninfas consumidas (i) y proporción de presas consumidas (ii) del PAC.

Cuadro 7. Comparación entre *C. rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* cuando se les ofrece diferentes densidades de la presa de ninfas del PAC.

Presas ofrecidas	Presas consumidas (media \pm EE)			F	df	P
	<i>C. rufilabris</i>	<i>C. comanche</i>	<i>Ce. valida</i>			
8	8 \pm 0.00 a	8 \pm 0.00 a	8 \pm 0.00 a	0.30	29	0.312
16	15.0 \pm 0.816 a	13.8 \pm 1.22 b	15.2 \pm 0.918 a	5.69	29	0.008
32	29.7 \pm 1.76 a	26.9 \pm 3.4 b	26.0 \pm 2.00 b	5.88	29	0.007
64	53.2 \pm 8.09 a	48.6 \pm 5.6 a	37.1 \pm 1.52 b	20.7	29	0.0001
128	93.6 \pm 7.67 a	77.7 \pm 7.46 b	62.0 \pm 5.51 c	51.59	29	0.0001
192	150.7 \pm 15.42 a	117.2 \pm 7.92 b	119.0 \pm 4.73 b	32.95	29	0.0001
256	164.7 \pm 7.3 a	138.2 \pm 11.9 b	142.4 \pm 14.32 b	15.8	29	0.0001

Valores de la misma fila seguidas por la misma letra minúscula no difieren significativamente; Tukey ($\alpha=0.05$).

3.3.2 Respuesta funcional de *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri*

La respuesta funcional para *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri* depredando ninfas de *D. citri* con base a los resultados del análisis en la regresión logística, fue de tipo I, donde el coeficiente lineal fue positivo o negativo y no significativo (Cuadro 8). Aunque, *Ce. claveri* tuvo una tendencia a una respuesta funcional de tipo II por el coeficiente lineal negativo y significativo, la ausencia de convergencia en el modelo de Rogers (1972) justificó el uso del modelo de tipo I. El coeficiente de ataque (b) en *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri* fueron de 1.55, 1.73 y 1.70, respectivamente (Cuadro 9).

La tendencia que se observó en la curva de respuesta funcional en *C. externa* fue constante en las densidades 32 y 64, enseguida decreció progresivamente en la densidad 128 hasta la densidad 256. Para *Ce. cincta* la proporción de consumo fue constante en las densidades 32, 64, 128 y 192, hasta la última densidad de 256 que bajó a 0.60 ninfas. Por último, en *Ce. claveri* se observó un declive en la proporción de consumo en las primeras densidades de presas y a partir de la densidad 32 mantuvo su proporción de consumo (Figura 2).

Cuadro 8. Análisis de la regresión logística de la proporción de ninfas del PAC consumidas por *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri*.

Parámetros	Estimadores ± EE	df	Valor C ²	P
<i>C. externa</i>				
intercepto	2.58±0.262	1	96.86	<0.0001
lineal	0.0020±0.006	1	0.09	0.7615
cuadrático	-0.0001±0.00004	1	6.41	0.011
cúbico	3.11±1.06	1	8.60	0.0034
<i>Ce. cincta</i>				
intercepto	1.86±0.202	1	85.29	<0.0001
lineal	-0.010±0.005	1	3.192	0.0740
cuadrático	0.00009±0.00004	1	4.52	0.0334
cúbico	-2.95±9.923	1	8.85	0.0029
<i>Ce. claveri</i>				
intercepto	4.13±0.341	1	146.48	<0.0001
lineal	-0.045±0.008	1	31.28	<0.0001
cuadrático	0.0002±0.00005	1	19.12	<0.0001
cúbico	-5.05±1.21	1	17.21	<0.0001

Cuadro 9. Coeficiente de ataque (a) de la respuesta funcional de *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri* a diferentes densidades de ninfas del PAC.

Parámetros	Estimadores ± EE	Intervalos Coeficiente Aproximado 95%	
<i>C. externa</i>			
a	1.554±0.0260	1.5022	1.6059
<i>Ce. cincta</i>			
a	1.73±0.0286	1.6741	1.7882
<i>Ce. claveri</i>			
a	1.70±0.028	1.646	1.760

Las especies de crisópodos de respuesta funcional tipo I presentaron diferencias significativas en el consumo de cada densidad de ninfas y entre especies ($P < 0.001$). La depredación aumentó gradualmente con el aumento de la densidad de la presa por especie. El depredador *Ce. cincta* consumió menos ninfas en densidades 16, 32 y 64 en comparación

de *C. externa* y *Ce. claveri*. En cambio en las densidades de 128, 192 y 256 *Ce. cincta* fue la especie que consumió ligeramente más que las otras dos, aunque no hubo diferencia significativa entre esta especie con *Ce. claveri*. (Cuadro 10).

Cuadro 10. Comparación de Medias (\pm DE) de ninfas del PAC depredadas por *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri* cuando se les ofrece diferentes densidades de la presa.

Presas ofrecidas	Presas consumidas (media \pm EE)			F	df	P
	<i>C. externa</i>	<i>Ce. cincta</i>	<i>Ce. claveri</i>			
8	8 \pm 0.00 a	8 \pm 0.00 a	8 \pm 0.00 a	0.30	29	0.312
16	15.1 \pm 0.99 a	13.7 \pm 1.82 b	16.0 \pm 0.00 a	9.35	29	0.0008
32	29.4 \pm 1.7 a	24.6 \pm 5.91 b	28.4 \pm 1.42 ab	5.02	29	0.0140
64	59.3 \pm 3.07 a	52.5 \pm 5.3 b	59.1 \pm 1.19 a	13.32	29	0.0001
128	102.1 \pm 10.53 a	106.0 \pm 11.2 a	100.1 \pm 10.4 a	0.78	29	0.469
192	123.5 \pm 16.51 b	149.6 \pm 8.8 a	144.2 \pm 18.37 a	8.27	29	0.0016
256	135.7 \pm 8.9 b	159.5 \pm 8.41 a	158.4 \pm 9.44 a	22.49	29	0.001

Valores de la misma fila seguidas por la misma letra minúscula no difieren significativamente; Tukey ($\alpha=0.05$).

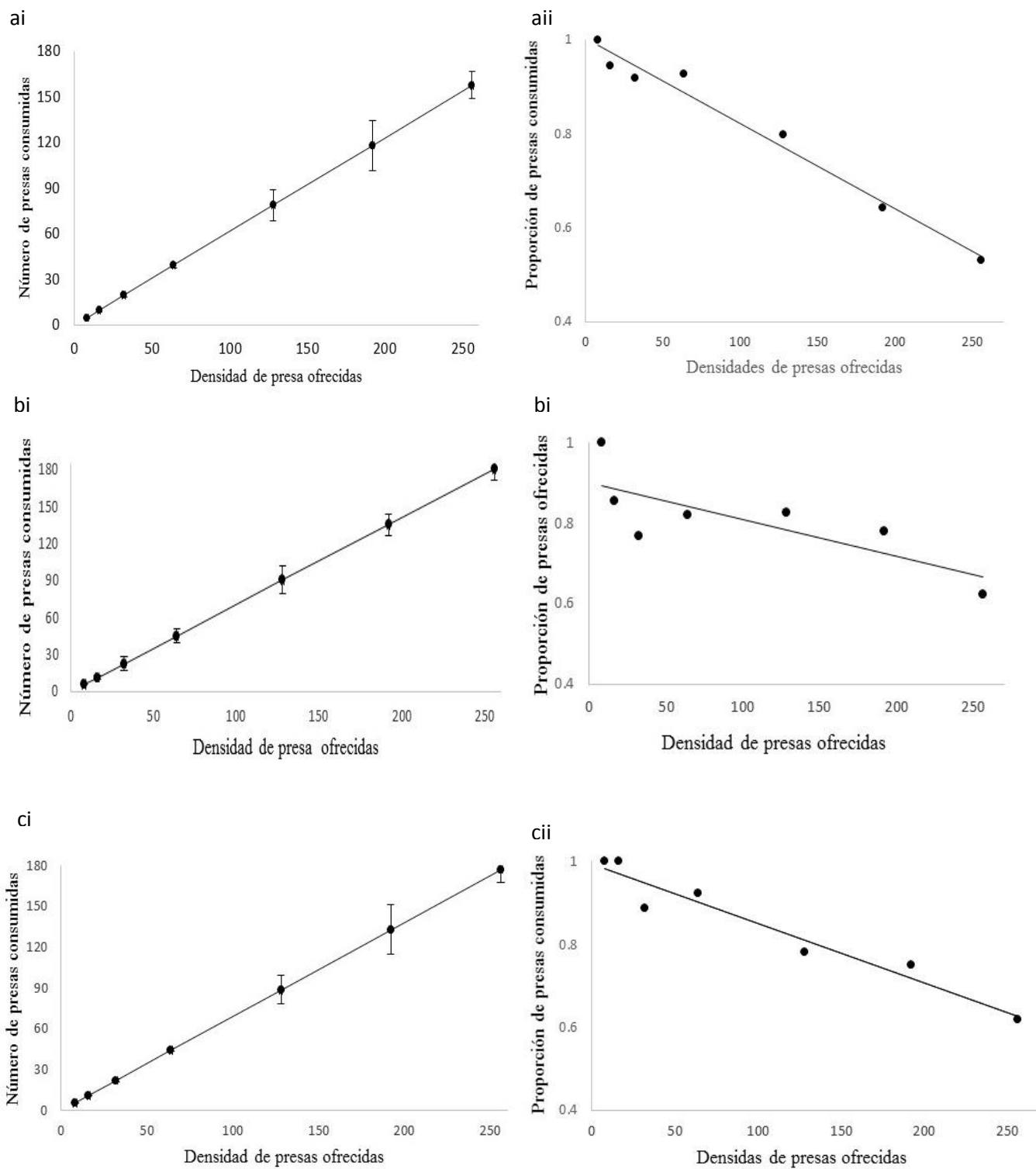


Fig. 2. Respuesta funcional de tipo I (a) *C. externa*, (b) *Ce. cincta*, (c) *Ce. claveri*. Medias (\pm DE) de ninfas del PAC consumidas (i) y proporción de presas consumidas (ii).

3.4 DISCUSIÓN

Las seis especies de crisópidos estudiadas respondieron al incremento de las densidades de presas del psílido. *Chrysoperla rufilabris*, *C. comanche* y *Ce. valida* exhibieron una respuesta funcional tipo II, donde el tiempo de manipuleo fue corto, y la curva de depredación alcanzó la asíntota en altas densidades de presa, característico para este tipo de respuesta funcional (Begon *et al.* 1990, Papanikolaous *et al.* 2014). El coeficiente de ataque (a) se prolongó en *C. rufilabris* y disminuyó en *Ce. valida*, los valores del tiempo de manipuleo fueron mayores en *C. comanche*. En estudios anteriores se señala que *C. comanche* prefiere consumir ninfas grandes (Pacheco-Rueda *et al.* 2012), por lo que podría saciarse con menor número de especímenes, y en consecuencia invierten más tiempo consumiendo, a diferencia de *Ce. valida* que disminuyó el tiempo de consumo, lo cual significa que en *Ce. valida* existe menor capacidad de ataque y en contraste menor tiempo en manipular a su presa. Tal vez el comportamiento de *Ce. valida* sea porque después de haberse alimentado rápidamente, invierte tiempo para integrar los paquetes de basura en la parte dorsal de su cuerpo para cubrirse y protegerse, característica de las larvas carga-basuras (Tauber *et al.*, 2014). El consumo de presa por la larva de *C. rufilabris* fue mayor a densidades de presa inferiores y altas, lo que indicaría que esta especie podría ser efectiva tanto en densidades bajas y altas del PAC, en contraste con *C. comanche* y *Ce. valida*, donde presentaron un consumo menor a densidades de presas inferiores, y altas a densidades mayores, posiblemente sean más efectivas a densidades altas de la presa, como lo confirma Mushtaq y colaboradores (2010).

Diferentes estudios indican que la respuesta funcional tipo II se ha determinado para varias especies de crisópidos, tal como *Chrysoperla carnea* cuando es alimentada sobre huevos de *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae), donde registran un coeficiente de ataque (a) de 1.03 y 0.89 para el primero y tercer ínstar larval, y un tiempo de manipuleo (Th) de 0.016 y 0.009 respectivamente (Abd El-Gawad *et al.* 2010). En esta misma especie de crisópido, Khan y Zaki (2008) estudiaron la respuesta funcional sobre *Aphis fabae solanella* (Hemiptera: Aphididae) quienes reportaron que el coeficiente de ataque (a) y de manipuleo fueron de 0.54 y 2.17 respectivamente. En general, los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado por otros autores, quienes indican que la respuesta tipo II es la más común entre los depredadores y parasitoides (Begon *et al.* 1999, Matadha *et al.* 2005, Ali *et al.* 2011).

Por otro lado, *C. externa*, *Ce. cincta* y *Ce. claveri* mostraron una respuesta funcional de tipo I, ya que el consumo de ninfas de *D. citri* aumentó de forma lineal a medida que incrementó la densidad de la presa (Rocha y Redaelli 2004, Irvin *et al.* 2009), lo cual implica que se presenta una mortalidad denso-independiente hasta el nivel de saciedad del depredador, ya que éste consume un porcentaje fijo de la densidad de su presa (Badii *et al.* 2013).

El coeficiente de ataque (a) aumentó en *Ce. cincta*, seguida de *Ce. claveri*; en cambio *C. externa* registró 18% menor ataque que las dos anteriores, es posible que *C. cincta* y *Ce. claveri* tengan mayor encuentro con su presa y su consumo por el PAC sea mayor en densidades de presas altas. Tal vez estas especies para llegar a su saciedad consuman más presas de lo ofrecido, es posible que hayan estado cerca de un límite de consumo; sin embargo, el comportamiento y alimentación, al igual que el tiempo de exposición del experimento dificultan una mejor interpretación de los resultados. Es necesario, en futuros

estudios, incrementar la densidad de presas y el tiempo de estudio para obtener información que describa la depredación en estas especies. Rocha y Redaelli (2004) señalan que en el trabajo de Nordlund y Morrison (1990) donde observaron que el tipo de respuesta funcional para *C. rufilabris* al alimentarlas con larvas de *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), así como de huevos y ninfas de *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) la respuesta funcional fue de tipo I, de acuerdo con Rocha y Redaelli este tipo I de respuesta no debería de ser aceptado, ya que cualquier depredador tiene un apetito limitado; tiene que existir una densidad de presa la cual exceda la capacidad de consumo, que frecuentemente es desapercibida en experimentos controlados, ya que metodológicamente se complica ofrecer una densidad de presa muy alta; probablemente lo mismo ocurrió en el presente estudio donde la evaluación sólo se desarrolló en cuatro horas. Aunque el consumo de insectos es menor, el tipo II fue verificado por Kabissa *et al.* (1996) en *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre huevos de *Helicoverpa armígera* (Lepidoptera: Noctuidae).

Parajulee y colaboradores (2006) señalan que la efectividad de un depredador está directamente relacionada con el tipo de su respuesta funcional. Los depredadores presentan una de las tres respuestas funcionales típicas, pero la respuesta puede variar con la fenología del cultivo, la variedad del hábitat, la edad de los depredadores y otros factores como los bióticos y abióticos. Así que en una respuesta funcional tipo I, el número de presas consumidas aumenta linealmente a una velocidad constante hasta que permanece constante a medida que aumenta la densidad de presas, por lo que es común que este tipo de depredadores no tienen ningún cambio en el comportamiento de alimentación con el cambio de las poblaciones de presas.

CAPÍTULO IV

Parámetros poblacionales de tres especies de *Chrysoperla* y dos especies de *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae)

4.1 INTRODUCCIÓN

El problema fitosanitario de mayor importancia en los cítricos es la enfermedad conocida como Huanglongbing (HLB), la cual es producida por la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. El vector de esta enfermedad es el psílido asiático de los cítricos (PAC), *Diaphorina citri*. La asociación entre el insecto vector y la enfermedad es muy compleja y continua propagándose en el mundo (Da Graca 1991, Bové y Garnier 2002, Halbert y Majunatha 2004, Batoool *et al.* 2007, García *et al.* 2013). Uno de los enfoques para reducir la incidencia de la enfermedad es el combate directo del psílido.

Para el control del PAC se han sugerido alternativas químicas, culturales, genéticas y biológicas; en estas últimas se han propuesto como candidatos para un programa de control biológico por aumento algunas especies de entomófagos de los géneros *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* (Neuroptera: Chrysopidae) con base en su diversidad y abundancia en los agroecosistemas citrícolas (López-Arroyo *et al.* 2005, Ramírez-Delgado 2007, Cortez-Mondaca 2011). Estudios recientes han mostrado que estos depredadores tienen una alta voracidad y capacidad depredadora sobre diferentes especies de crisópidos (Pacheco-Rueda, Capítulo 3 de este documento). A pesar de que estudios sobre parámetros biológicos de las crisopas en depredación del PAC son escasos (Michaud y Olsen 2004), por lo que estos estudios que conlleva a las tablas de vida son herramientas que contribuyan a cuantificar, analizar e interpretar factores de mortalidad (Naranjo 2001), así como a estimar el potencial de crecimiento poblacional (Maia *et al.* 2000), información necesaria

para poder detectar la o las especies con mayor potencial de control sobre el PAC. Adicionalmente, los parámetros de fecundidad y fertilidad ayudan a estimar la capacidad potencial y real de las población en relación con la producción de descendientes y con la duración biológica de los depredadores a evaluar (Huffaker y Rabb 1984). Unos de los parámetros poblacionales de mayor importancia es la tasa de incremento intrínseco (r_m), que permite calcular el aumento demográfico en determinadas condiciones ambientales (Southwood y Henderson 2000). Por lo anterior, el presente estudio se realizó con el objetivo de identificar rasgos biológicos y reproductivos, y determinar los parámetros poblacionales, mediante tablas de vida y fertilidad, de tres especies del género *Chrysoperla* y tres de *Ceraeochrysa* al ser alimentadas con el psílido asiático de los cítricos.

4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1 Depredador

La cría de los depredadores se realizó en el Departamento de Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB), SENASICA, SAGARPA, ubicado en Tecomán, Colima, México. Las seis especies evaluadas fueron: *Chrysoperla externa*, *C. rufilabris*, *C. comanche*, *Ceraeochrysa cincta*, *Ce. valida* y *Ce. claveri*. Para esta última especie solo se obtuvo el ciclo biológico. Los adultos de las especies evaluadas se criaron en cilindros de PVC de 25 cm de alto y 12 cm de diámetro, siguiendo la metodología de Alexander *et al.* (2001), y utilizando una dieta artificial con base en la fórmula de Hassan y Hagen (1978). Los adultos que se ocuparon en los experimentos fueron obtenidos de las larvas previamente alimentadas con ninfas de *Diaphorina citri* desde el estado larval.

4.2.1.1 Presa

Las ninfas de *D. citri* (PAC) que se utilizaron para alimentar a las larvas se obtuvieron de una cría establecida desde 2009 en condiciones de invernadero dentro de las instalaciones del CNRCB sobre plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack. (Sapindales: Rutaceae) sin aplicaciones de insecticidas. El proceso de producción de la plaga se describe en Sánchez-González y Arredondo-Bernal (2011). Los experimentos se realizaron en una cámara bioclimática a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ con 60-70% de HR y un fotoperiodo de 16:8 (L: O).

4.2.2 Ciclo de vida

El experimento se inició con una cohorte de 100 huevos de cada especie de crisópido de menos de 24 horas de edad. La unidad experimental consistió en colocar un huevo dentro de una caja Petri de acrílico (4 cm de diámetro) con perforaciones laterales y cubierto con tela organdí para su ventilación. Al emerger las larvas del depredador, se alimentaron con poco más de 50 ninfas de *D. citri* por brote de *M. paniculata* ofrecido. Las observaciones y la sustitución de alimento se realizaron diariamente. La exuvia de cada ínstar larval se utilizó como referencia para determinar la fase biológica de las larvas.

4.2.3 Análisis de datos

En cada intervalo de edad se calculó el número de insectos muertos (dx), tasa de mortalidad (qx), tasa de sobrevivencia (lx) y esperanza de vida (ex) siguiendo la metodología propuesta por Bellows y Van Driesche (1999). El tiempo de desarrollo de cada especie se comparó mediante un ANOVA. La longevidad de hembras y machos de cada especie se comparó con una prueba de *t*. Se realizó un análisis de regresión lineal entre el porcentaje de supervivencia y el tiempo (días) (SAS 2009).

4.2.4 Preoviposición y fecundidad de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa*

Los parámetros de preoviposición y fecundidad se estimaron en tres especies de *Chrysoperla* y dos de *Ceraeochrysa*. Se utilizaron individuos con un tiempo de emergencia de ≤ 12 h, con los cuales se formaron 10 parejas por cada especie de crisópido estudiado, estos se colocaron en vasos de unicel (10 cm de alto y 8 cm de ancho) con una tapa perforada y cubierta con tela de organdí para su ventilación. El recipiente de unicel se le perforó para tener un orificio lateral que se cubrió con algodón húmedo y sirvió como fuente de agua para los adultos, como alimento se utilizó una dieta artificial (Hassan y Hagen 1978) que fue reemplazada cada tercer día. Se realizaron observaciones diariamente, registrando el periodo preoviposición y oviposición (días), para determinar el número de huevos por hembras. En relación a *Ce. cincta*, es una especie que requiere múltiples copulas (López-Arroyo *et al.* 1999, Delgado 2007), por lo que se colocaron 3 machos por cada hembra.

4.2.5 Análisis de datos

Los valores del tiempo de desarrollo de huevo a adulto de cada especie y los parámetros de tablas de vida, se analizaron con el programa Excel, de acuerdo con la metodología descrita por Bravo *et al.* (2000). Los datos del periodo de preoviposición de cada especie fueron sometidos a un ANOVA, para reducir la variabilidad de los datos la fecundidad se evaluó con la suma semanal de huevos por hembra. Los valores de fecundidad diaria y supervivencia de adultos se utilizó el programa Lifetable (Maia *et al.* 2000) en SAS (2000). Los parámetros poblacionales estimados fueron: fecundidad (mx), que se define como el número total de huevos que deposita una hembra; la tasa neta de reproducción (R_0), que se refiere al número de hembras que una hembra produce en una generación; la tasa intrínseca

de crecimiento (r_m) definida como la capacidad de multiplicarse de una población en el lapso de una generación, el tiempo de generación (T), que es el tiempo promedio entre dos generaciones sucesivas y la tasa finita de reproducción (λ) (Rabinovich 1982).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Tiempo de desarrollo biológico de tres especies de *Chrysoperla*

El tiempo de desarrollo promedio de huevo a adulto entre las especies de *Chrysoperla* evaluadas presentaron diferencia significativa ($P \geq 0.001$). En *Chrysoperla rufilabris* fue de 28.4 días con un rango de 23 a 35 días, *C. comanche* de 26 días con un rango de 20 a 31 días, y *C. externa* fue de 27 días con un rango de 18 a 36 días; ésta última registró mayor supervivencia desde huevo a adulto (85%), donde la mayor mortalidad (dx) se presentó en huevo (9%), seguido de la pupa (8%). Para *C. comanche* la supervivencia de huevo a adulto fue de 79 %, y su mayor mortalidad (dx) se observó en la emergencia del adulto (11%). En cambio, *C. rufilabris* fue la especie que registró sólo el 69% de supervivencia de huevo a adulto y en el tercer instar larval la mortalidad (dx) fue 8%.

En las especies de *Chrysoperla* no existieron diferencias en el tiempo de desarrollo entre hembras y machos; *C. externa* ($t= 1.34$; $P=0.18$), *C. rufilabris* ($t= 0.34$; $P=0.72$) y *C. comanche* ($t= 0.72$; $P=0.47$) (Cuadro 11).

La longevidad promedio de adultos de *C. rufilabris* fue de 18.9 ± 1.32 días con un máximo de 34 y un mínimo de 5 días, donde no hubo diferencias significativas entre sexo ($t= 1.44$; $p= 0.157$). En *C. externa* se registró un período de 26.0 ± 2.43 días con un máximo de 73 y un mínimo de 3 días, siendo las hembras más longevas (33 días) que los machos (18 días)

($t= 3.36$; $p= 0.002$), en cambio en *C. comanche* la longevidad fue de 33.8 ± 3.23 días con un máximo de 58 y un mínimo de 2 días. Las hembras vivieron en promedio 38 días y el macho 28 días, no presentando diferencias estadísticas en ambos ($t= 1.64$; $p= 0.113$).

Cuadro 11. Rasgos biológicos de tres especies de *Chrysoperla* alimentado con ninfas de *D. citri* alimentadas sobre ninfas de *D. citri* (n=100).

Especies	Fase biológico	Tiempo de desarrollo (Media \pm EE*)		t**	P ***	lx	dx	100qx (%)
		Hembra (días)	Macho (día)					
<i>C. externa</i>	Huevo	3.9 \pm 0.10	4.21 \pm 0.08			100	9	9.0
	Larva I	3.8 \pm 0.11	3.42 \pm 0.12			91	4	4.0
	Larva II	3.2 \pm 0.1	3.47 \pm 0.19			87	2	2.0
	Larva III	4.6 \pm 0.2	3.66 \pm 0.22			85	0	0
	Pupa	10.2 \pm 0.25	10.0 \pm 0.22			85	8	8.0
	Huevo-Adulto	25.6 \pm 0.42	26.4 \pm 0.38	1.34	0.18			
<i>C. rufilabris</i>	Huevo	3.97 \pm 0.13	3.8 \pm 0.10			100	7	7.0
	Larva I	4.0 \pm 0.2	4.2 \pm 0.2			93	6	6.5
	Larva II	3.7 \pm 0.2	3.9 \pm 0.2			87	5	5.7
	Larva III	5.7 \pm 0.34	5.0 \pm 0.26			82	8	9.8
	Pupa	10.0 \pm 0.3	10.4 \pm 0.27			74	5	6.8
	Huevo- Adulto	28.5 \pm 0.5	28.3 \pm 0.4	0.34	0.72			
<i>C. comanche</i>	Huevo	4.11 \pm 0.16	4.23 \pm 0.8			100	1	1.0
	Larva I	3.5 \pm 0.1	3.4 \pm 0.12			99	2	2.0
	Larva II	3.2 \pm 0.2	3.47 \pm 0.192			97	2	2.0
	Larva III	4.0 \pm 0.2	3.66 \pm 0.22			95	2	2.0
	Pupa	10.0 \pm 0.2	10.1 \pm 0.22			90	4	4.0
	Huevo-Adulto	25.0 \pm 0.8	24.8 \pm 0.85	0.72	0.47			

* Error estándar, ** valores de t, ***

4.3.2 Tiempo de desarrollo biológico de tres especies de *Ceraeochrysa*

El tiempo de desarrollo de huevo a adulto difirió entre especies de *Ceraeochrysa* ($P \leq 0.001$). El depredador *Ce. valida* mostró el tiempo de desarrollo más largo 35 días (rango de 24 a 43 días), seguida de *Ce. cincta* con 33 días (rango de 28 a 42 días). En cambio, *Ce. claveri* presentó el tiempo de desarrollo más corto de las tres especies evaluadas (29.5 días con un rango de 29 a 34 días). La supervivencia de huevo a adulto fue de 63% en *Ce. claveri*, 71% en *Ce. valida* y *Ce. cincta* con el 66 %. La tasa de mortalidad (dx) más alta

fue en *Ce. claveri* en la fase de huevo (17%), seguido de larval uno (13%); mientras que en *Ce. valida* la mayor mortalidad se presentó en larval dos (11%), y en *Ce. cincta* fue mayor (10%) en ambos estados de huevo y larva uno. Los adultos de *C. valida* no presentaron diferencia significativa entre el desarrollo biológico de ambos sexos ($t= 2.93$; $P=0.10$). Sin embargo, para las dos especies restantes de *Ceraeochrysa* no existió significancia entre el tiempo de desarrollo y sexo (Cuadro 12).

La longevidad promedio de adultos de *Ce. valida* fue de 25.88 ± 2.92 días con un máximo de 60 y un mínimo de 11 días. Las hembras fueron más longevas (27.9 días) que los machos (23 días) ($t= 3.36$; $p= 0.002$). En *Ce. cincta* el período fue de 27.0 ± 3.4 días con un máximo de 68 días y un mínimo de 6 días, y las hembra fueron más longevas de 39.8 días que los machos (28 días). En general, en ambas especies, las hembras fueron más longevas que los machos ($t= 3.68$; $p= 0.001$).

Cuadro 12. Rasgos biológicos de tres especies de *Ceraeochrysa* alimentadas sobre ninfas de *D. citri* (n=100).

Especies	Fase biológico	Tiempo de desarrollo (Media \pm EE *)		t**	P ***	lx	dx	100qx (%)
		Hembra (días)	Macho (día)					
<i>Ce. valida</i>	Huevo	5.07 \pm 0.01	5.0 \pm 0.01			100	6	6.0
	Larva I	4.6 \pm 0.2	5.0 \pm 0.2			94	2	2.0
	Larva II	3.9 \pm 0.1	3.9 \pm 0.2			92	11	12.0
	Larva III	6.8 \pm 0.5	6.8 \pm 0.4			81	3	3.0
	Pupa	14.0 \pm 0.35	14.0 \pm 0.4			78	7	7.0
	Huevo a Adulto	34.3 \pm 0.5	33.9 \pm 0.50	2.93	0.10			
<i>Ce. claveri</i>	Huevo	4.12 \pm 0.15	4.2 \pm 0.8			100	17	17.0
	Larva I	3.9 \pm 0.1	4.1 \pm 0.2			83	13	13.0
	Larva II	2.73 \pm 0.14	2.6 \pm 0.2			70	0	0
	Larva III	5.6 \pm 0.19	6.0 \pm 0.3			70	3	3.0
	Pupa	13.0 \pm 0.2	13.0 \pm 0.2			67	4	4.0
	Huevo a Adulto	30.8 \pm 0.18	31 \pm 0.1	0.45	0.65			
<i>Ce. cincta</i>	Huevo	4.21 \pm 0.13	4.5 \pm 0.9			100	10	10.0
	Larva I	4.5 \pm 0.18	4.0 \pm 0.15			90	10	10.0
	Larva II	3.9 \pm 0.32	3.9 \pm 0.2			80	4	4.0
	Larva III	5.3 \pm 0.51	5.8 \pm 0.43			79	7	7.0
	Pupa	13.9 \pm 0.35	13.0 \pm 0.18			72	6	6.0
	Huevo a Adulto	32.9 \pm 0.7	32.0 \pm 0.50					
				0.58	0.56			

* Error estándar, ** valores de t, ***² probabilidades

4.3.3 Fecundidad de las especies de *Chrysoperla*

La fecundidad (m_x) de *C. externa* fue de 208.7 ± 6.70 huevos totales, que en promedio equivale a 5.2 ± 1.2 huevos/hembra/día, con un registro máximo de 55 huevos diarios. En cambio, *C. rufilabris* presentó una m_x de 151 ± 8.3 huevos, y el promedio fue de 6.1 ± 1.9 huevos/hembra/día, con un máximo de 77 huevos. Mientras que en *C. comanche* la m_x fue 169.8 ± 3.8 huevos con un promedio de 4.5 ± 1.2 huevos/hembra/día, con un máximo de 39 huevos. La fecundidad semanal fue similar entre especies, de *Chrysoperla*, con los valores más altos de fecundidad en la semana dos para *C. comanche* y *C. rufilabris*, aunque sin diferencia significativa entre estas especies (Figura 3). Los parámetros poblacionales en *C. externa* registraron una tasa neta de reproducción más alta ($R_o = 96.3$) que las dos especies restantes de *C. rufilabris* (62.7) y *C. comanche* (76.38), no hubo diferencia significativa entre estas especies ($P= 0.250$) (Cuadro 13).

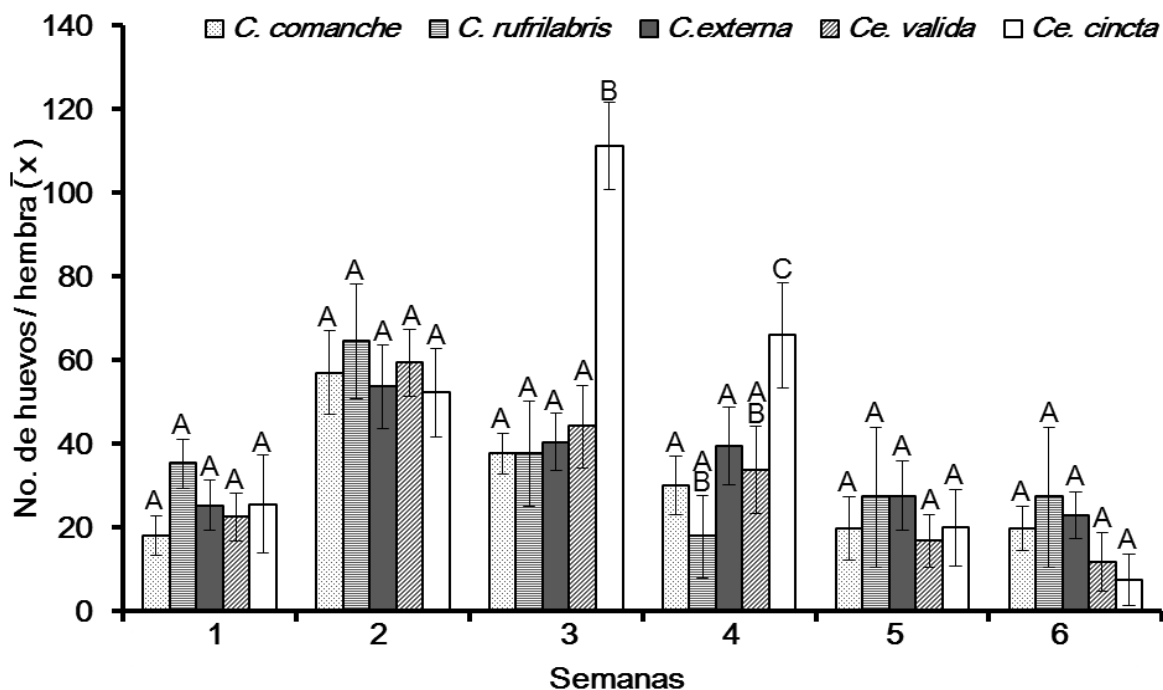


Fig.3 Fecundidad semanal de cinco especies de crisópidos. Tratamientos dentro de la misma semana y con letras iguales, no presentaron diferencias entre sí ($\alpha= 0.05$).

Cuadro 13. Parámetros poblacionales de tres especies de *Chrysoperla* y dos de *Ceraeochrysa*

Especies	m_x	R_o	r_m	T	λ
<i>C. externa</i>	208.7	96.38 a	0.111 a	41.04 a	1.17 a
<i>C. rufilabris</i>	151.0	62.6 a	0.125 a	32.88 b	1.13 a
<i>C. comanche</i>	169.8	76.38 a	0.111 a	37.94 c	1.99 a
<i>Ce. valida</i>	170.6	76.79 a	0.102 a	42.1 c	1.10 a
<i>Ce. cincta</i>	283.0	127.0 b	0.110 a	44.02 c	1.11 a

(m_x) Fecundidad, (R_o) tasa neta de reproducción, (r_m) tasa intrínseca de crecimiento, (T) tiempo generacional, (λ) tasa finita de crecimiento. Valores por columna y con la misma letra no difieren significativamente entre sí ($P \leq 0.05$).

4.3.4 Fecundidad de especies de *Ceraeochrysa*

La fecundidad (m_x) de *Ce. valida* fue de 171 ± 8.31 huevos totales, con un promedio de 4.48 ± 2.28 huevos por hembra por día, con un máximo de 68 huevos. En relación a *Ce. cincta* presentó una fecundidad total de 283 ± 9.50 huevos, con un promedio por día por hembra es de 6.77 ± 3.05 huevos, y un máximo de 70 huevos (Figura 3). La tasa neta de reproducción (R_o) entre *Ceraeochrysas* hubo diferencias significativas ($P= 0.006$); *Ce. valida* de 71.23, en cambio *Ce. cincta* fue de 127, cabe destacar que en esta especie la condición en la arena experimental la proporción sexual fue de 1:3 (hembra: macho).

4.4 DISCUSIÓN

Todas las especies de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa* evaluadas mostraron capacidad para desarrollarse y reproducirse cuando su estado larval es alimentado con en ninfas del psílido asiático de los cítricos (PAC). El tiempo de desarrollo de huevo a adulto de las especies de *Ceraeochrysa* (33 días) en promedio fue seis días más largos respecto del periodo de las especies de *Chrysoperla* (27 días). Se asume que en general las especies de *Ceraeochrysa* tienen un desarrollo biológico de mayor duración, como lo señalan varios autores (López - Arroyo *et al.* 1999, Alexander *et al.* 2001, Ramírez-Delgado *et al.* 2007, Giffoni *et al.* 2007). Las larvas de crisópidos son utilizadas en el control biológico de diversas plagas en campos e invernaderos de diferentes regiones del mundo (Tauber *et al.* 2000, New 2001, Huang y Enkergaardn 2010), y casi no se conoce su potencial en las plagas de importancia económica del país, ante estos es necesario determinar el potencial reproductivo de las especies de crisópidos como agente de control biológico para *D. citri*.

Los tiempos de desarrollo de *C. comanche* y *Ce. claveri* fueron los más cortos (26 y 29 días, respectivamente). Estudios anteriores señalan que *Ce. claveri* demostró mayor voracidad en todos sus instar larvales al depredar ninfas de *D. citri* (Pacheco-Rueda *et al.* 2012), y en consecuencia pudiera reducir su tiempo de desarrollo; sin embargo, la supervivencia de huevo a adulto fue baja (63%).

Alexander *et al.* (2011) señala que *Chrysoperla externa* presentó un desarrollo biológico más corto al compararlo con *Ceraeochrysa cincta* alimentados sobre huevos y ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). En algunos casos los tiempo de desarrollo se acortan o se prolongan más dependiendo de la especie de presa; por ejemplo,

Ce. cincta duró 27 días con una dieta de *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) (López-Arroyo *et al.* 1999).

La longevidad de todas las especies evaluadas fue en promedio 11 días más en hembras respecto de los machos. Goncalves *et al.* (2003), señalan que el tipo de alimentación afecta la duración de longevidad en adultos y larvas de Chrysopidae. En este estudio, posiblemente la larga longevidad de las hembras, se deba a que requieran más carbohidratos, para la producción de huevos. Como lo indica Miller y Cave (1987) para *Micromus posticus* (Hemerobiidae). Sin embargo, los machos presentan una longevidad corta, es posible que durante el apareamiento inviertan más energía y como consecuencia mueran rápido que las hembras, en general los insectos de este sexo solo son para la reproducción.

Por otro lado, la fecundidad (m_x) de las hembras es fuertemente influenciada por la alimentación (Goncalves *et al.* 2003), las diferentes presas que son usadas para el desarrollo de las larvas de crisópidos se ve reflejado en el periodo de oviposición de los adulto. En el presente estudio, la fecundidad (m_x) fue baja en *C. rufilabris* (151 h/h). Sin embargo, se registró una alta oviposición en el séptimo día (335 h/h /d), y para *Ce. valida* fue en el día 13 (225 h/h/d). En ambas especies; *C. rufilabris* y *Ce. valida* coinciden con los valores más altos en promedio de huevo por día (6.1 y 4.4, respectivamente), aunque no existen elementos suficientes en este estudio para considerar que estas especies alcancen su máximo potencial reproductivo, se considera que puedan ser útiles en un pie de cría masivo, ya que ambas presentan fecundidad alta en los primeros 13 días de oviposición.

Con base en los parámetros poblacionales que permiten inferir el potencial reproductivo de las especies evaluadas en este estudio, se encontró que la población de *C. externa* se

multiplicaría 93.38 veces cada 41 días, y con una tasa intrínseca de crecimiento (r_m) de 0.11, lo que muestra que la población puede incrementar 1.1% de unidad de tiempo a la siguiente. En cambio, *C. rufilabris* fue la especie que presentó una reproducción baja; es decir, esta especie se multiplica (R_o) 62.68 veces cada 22 días. En trabajos similares con *C. carnea*, se observó que la R_o fue de 112 cuando se ocupa una dieta con *B. tabasi* (Guautam *et al.* 2009).

En *Ce. cincta* se multiplicaría 127 veces cada 44 días, cuando la proporción sexual es 1:3, la población puede incrementar 1.1% de unidad de tiempo a la siguiente. López-Arroyo y colaboradores (1999) reportaron que la población de *C. smithi* se multiplica 97.9 veces cada 54.8 días, por lo que la población puede incrementarse 8.4% (r_m). La especie con parámetros poblacionales bajos fue en *C. cincta*, esta se multiplica 32 veces cada 43.6 días, a pesar de que tuvo una alta tasa fecundidad, presentó un periodo bajo en la (m_x). En contraste, *C. cubana* tuvo una baja tasa de oviposición pero persistió un prolongado periodo de oviposición.

Los resultados de la presente investigación apoyan la propuesta de que las especies de crisópidos evaluados pueden contribuir al control biológico del PAC, sin embargo se sugiere seguir evaluando a estas especies para su reproducción masiva.

LITERATURA CITADA

- Abd El-Gawad, H.A.S., M.M.Sayed Atef, and S.A. Ahmed. 2010. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) larvae to *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs. *Australian Journal of Basic and Applied Science*, 4(8): 2182- 2187.
- Adams, P.A. & N.D. Penny.1987. Neuroptera of the Amazon Basin, Part IIa. Introduction and Chrysopini. *Acta Amazonica* 15:413-479.
- Alemán, J., H.Baños y J. Ravelo. 2007. *Diaphorina citri* y la enfermedad Huanglongbing: una combinación destructiva para la producción citrícola. *Revista de Protección Vegetal*. 22(3): 154-165.
- Alexander M. A.; Toscano, L. C.; Boica, J. AL.; De Freitas, S. 2001. Aspectos Biológicos de los estadios inmaduros de *Chrysoperla externa* (Hagen) e *Ceraeochrysa cincta* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentados con ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* (Gennadius) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology* 30 (3): 429-432.
- Albuquerque, S. G.; Tauber, C. A.; Tauber, M. J. 2012. Green Lacewing (Neuroptera: Chrysopidae): Predatory lifestyle. *In: Panizzi, R.A., J.R.P. Parra. 2012. Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management. CRC Press, Taylor & Francis Group. 594-630p.*
- Ali MP, Naif AA, Huang D.2011.Prey consumption and functional response of phytoseiid predator, *Neoseiulus womenrsleyi*, feeding on spider mite, *Tetranychus macferlanei*. *Journal of insect Science* 11:167.

- Bassanezi, R. B.; Montesino, L. H.; Godoy, G. M. C.; Filho, A. B.; Amorin, L. 2011. Yield loss caused by huanglongbing in different sweet orange cultivars in Sao Paulo, Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 130: 577-586.
- Batool, A.; Iftikhar, Y.; Mughal, S. M.; Khan, M. M.; Jaskani, M. J. 2007. Citrus greening disease-a major cause of citrus decline in the world- a review. *Horticultura Science (Prague)* 34 (4):159-166.
- Begon, M., J.L. Harper, and C.R. Townsend. 1996. *Ecology; individuals, populations and communities*. Blackwell, Oxford, United Kingdom.
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology* 88 (1): 7-37.
- Boina, D. R., W.L. Meyer, E. O. Onagbola, and L.L. Stelinki. 2009. Quantifying dispersal of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) by immunomarking and potential impact of unmanaged groves on commercial citrus management *Environmental Entomology* 38:1250-58.
- Canard, M., and M. M Principi, 1984. Development of Chrysopidae, pp 57-75 In: M. Canard, Y Séméria, and T.R. New (Ed.). *Byology of Chrysopidae*. Dr W. Junk Plublisers. The Hague.
- Cardoso, T. J.; Lazzani, S. M. N. 2003. Development and consumption capacity of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysoptera) fed with *Cinara* spp. (Hemiptera, Aphididae) under three temperatures. *Revista Brasileira de Zoologia* 20(4): 573-576.
- Cortez-Mondaca, E, López-Arroyo, J. I., Rodríguez, L., Partida, M. P., Pérez, M. J., González, C. V. M. 2011. Capacidad de depredación de especies de Chrysopidae asociadas a *Diaphorina citri* Kuwayama en los cítricos de Sinaloa, México, pp. 323-

333. En: 2º Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México.
- Chen, T. Y.; Liu, T. X. 2001. Relative consumption of three aphid species by the lacewing, *Chrysoperla rufilabris*, and effects on its development and survival. *BioControl* 46:481-491.
- Chen, C. N. 1998. Ecology of insect vector of citrus systemic diseases and their control in Taiwan. Managing banana and citrus diseases. Disease Management of Banana of Citrus through the Use of Disease-free Planting Materials, Davao City, Philippines.
- Cerna, E., C. Ail., J. Lamderos, S. Sánchez, M. Badii, L. Agirre, y Y. Ochoa. 2012. Comparación de la toxicidad y selección de insecticidas para la plaga *Bactericela cockerelli* y su depredador *Chrysoperla carnea*. *Agrociencias*, 46: 783-793.
- Coronado, B., J. M., E. Ruíz C., G. Gaona G. Gaona G, & J. R. Mateos C. 2005. Homoptera (Insecta) de Tamaulipas, México, pp. 120-124. En: L. Barrientos L., A. Carrera Sandoval, J. V. Horta Vega & J. García Jiménez. (eds.), Instituto Tecnológico de Cd. Victoria, DGEST. Biodiversidad Tamaulipas, Vol. 1, 272p.
- Cortez-Mondaca, E., J. I. López-Arroyo, L. M. Hernández-Fuentes, A. Fu-Castillo y J. Loera-Gallardo. 2010. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos dulces, en México: Selección de Insecticidas y épocas de aplicación. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Folleto (INIFAP). Centro de Investigación Regional del Noroeste, Campo Experimental Valle del Fuerte. Los Mochis, Sinaloa, México. Folleto técnico N° 35., México. 22p.
- Cortez, M. E., J. I. López A. L. R. Rodríguez., P. V. Partida M., M. P. Pérez J., y M. C. González V. 2011. Capacidad de depredación de especies de Chrysopidae asociados a *Diaphorina citri* Kuwayama en los cítricos de Sinaloa, México. Pp. 323-333. En:

- Segundo Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido asiático de los cítricos y el Huanglongbing en México. López-Arroyo, J.L y González-Lauck, V. W. (Comps). Texcoco, Edo. De México, Diciembre.
- Croft, B. A. 1990. Arthropod biological control agents and pesticides. J. Wiley and Sons, New York. 723 pp.
- Crespo, R.G.H., Varela, F.S.E., Manzo, M.G. 1990. Chrysopidae (Neuroptera) en naranjo valencia *Citrus sinensis* (L) de la zona centro de Tamulipas. pp 208. *En: Memorias XXV Congreso de Entomología. Oaxaca, Oaxaca, México.*
- Díaz, C.C.2010. Naranja dulce, limón partido. *Rev. Claridades Agropecuarias. 197: 32-39.*
- Dahiya, K. K.; Lakra, K. R; Dahiya, S. A; Singh, P. S. 1994. Bioefficacy of some insecticides against citrus psylla. *Diaphorina citri*. *Crop Research, 8: 137-140.*
- De Graca, J. V. 1991. Citrus greening disease. *Annual Review Phytopathology 29: 109-136.*
- De Leomos, R.N.S., G.S. Da Silva, J.R.G. Araujo, E.F. Das Chagas, A.A. Moreira & A.T.M. Soares. 2006. Ocurrance of *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) in the State of Maranhao, Brazil. *Neotropical Entomology 35: 558-559.*
- Dixon, A. F. G. 2000. *Insect Predator-Prey Dynamics Ladybirds Beetle and Biological Control.* London, Cambridge University Press, 257p.
- Duelli P. 2001. Lacewings in field crop, 158-171. *In: McEwen. P.K, T.R. New, A.E. Whittington (eds). Lacewings in the crop environment.* Cambridge University Press, U.K
- Etienne, J., S, Quilici, D. Marivala, and A. Franch. 2001. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiate* (Hymenoptera: Eulophidae). *Fruits 56 (5): 307-315.*

- Etienne, J., D.Burckhardt, and C. Grapin. 1998. *Daiaphorina citri* (Kuwayama) en Guadeloupe, premier siglament pour les Caraibes (Hemiptera:Psyllidae). Bulletin de la Saociete Entomologique de France 103:32
- FAOSTAT. 2012. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division.[En linea]. Disponible en <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. [Consultada 1 de junio de 2015].
- Fernández-Arhex, V., and J.C. Corley. 2004. La respuesta funcional: una revision y guía experimental. *Ecología Austral* 14: 83-93
- Flores-Sánchez, J. L.; Mora-Aguilar, G.; Loeza-Kuk, E.; Acevedo-Sánchez, G.; Díaz-Padilla, G; Ruiz-García, N.; López- Arroyo, J. I.; Rivas-Valencia, P.; Novelo-Cocón, A; López-Sánchez, P.; Sánchez-Rebolledo, F.2010. Análisis Estructural de Focos y Gradientes de Dispersión del Huanglongbing (HLB) de los cítricos, en la Península de Yucatán En: memorias del 1er. Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítrico y el Huanglongbing en México. Pp: 104-118.
- Giffoni, J., N. Valera., F.Días y C. Vásquez. 2007. Ciclo Biologico de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada con Diferentes presas. *Bioagro*, 19 (2): 109-113.
- Gitonga, L. M.,W.A. Overholt, B. Lohr, J.K. Magambo, and J. M. Muke. 2002. Funcional response of *Orius albidipennis* (Hemiptera: Anthocoridae) to *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera: Thripidae). *Biological Control* 24: 1-6.
- Gómez-Torres, M.L., D. E. Naava, and J.R. Postali. P.2012. Life Table of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) at different teperatures. *Journal of Econoic Entoology*, 105(2): 338-343.

- Gottwald, T. R. 2010. Current Epidemiological Understanding of Citrus Huanglongbing. Annual Review of Phytopathology 48: 119-139.
- Gottwald, T.R., J.V. de Graca, R.B. Bassanezi. 2007. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2007-0906-01-RV.
- Gautam, S., A.K. Singh. and R.D. Gautam. 2009. Comparative life table analysis of chrysopids reared on *Phenacoccus solenopsis* Tinsley in laboratory. Journal Biological Control, 23(4): 393-402
- González, J. A. 2014. Toxicidad de insecticidas sobre tres especies de depredadores de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviivdae). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Estado de México, México. 52p.
- Halbert, S. E., and Manjunath, K. L. 2004. Asian Citrus Psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist 87(3): 330-353.
- Halbert, S. E.,and A.Nuñez. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllide) in the Caribbean basin. Florida Entomologist 87: 401-402.
- Halbert, S. E. 20005. The discovery of huanglongbing in Florida. Pp. 50. In: Tim R. Gottwald, Wayne N. Dixon, James H. Graham Philip Beger (eds.). Proceeding of 2nd International Citrus Canker and Huanglongbing Research Workshop. Orlando, Florida.
- Hassan, S. A.; Hagen, K. S. 1978. A new artificial diet for rearing *Chrysoperla carnea* larvae (Neuroptera: Chrysopidae), Z. Angewandte Entomologie. 86: 315-320.
- Huang, N., and Enkergaard, A. 2010. Predation capacity and preference of *Chrysoperla carnea* on *Pieris brassicae*. Biocontrol, 55: 379-385.

- Huang, C. H., C.F. Liaw, L. Chang, and T. Lan. 1990. Incidence and spread of citrus likubin in relation to the population fluctuation of *Diaphorina citri*. Plant protection Bulletin (Taiwan, ROC) 32: 167-176.
- Huffaker, C.B., P.S. Messenger, and P.DeBach. 1971. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control, pp. 16-67. *In*: C.B.Huffaker (ed.), Biological Control. Plenum Press, New York.
- Hurej, M.; Dutcher, D. 1994. Indirect effect of insecticides used in pecan orchards to larvae of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). Journal of Entomological Science. 29: 450-456.
- Husain, M.A., and D.Natha. 1927. The citrus psylla (*Diaphorina citri*, Kuw.) (Psyllidae: Homoptera). Memoirs of the Department of Agriculture India, Entomology Series 10 (2): 5-27.
- Irvin, N. J. Suarez-Espinoza, and M. Hoddle. 2009. Functional response of *Gonatocerus ashmeadi* and the “new association” parasitoid *G. tuberculofemur* attacking eggs of *Homalodisca vitripennis*. Environmental Entomology, 38 (6): 1634-1641
- Juliano, S.A. 1993. Nonlinear curve fitting; predation and functional response curves, pp. 178-196. *In*: S. M, Scherinder and J.Gurevich (eds.), Design and analysis of ecological experiments. Oxford University Press, New York.
- Khan, A. H. A.; Sayyed, A. H.; Akram, W.; Raza, S.; ALI, M. 2012. Predatory potential of *Chrysoperla carnea* and *Cryptolaemus montrouzieri* larvae on different stages of the mealybug, *Phenacoccus solenopsis*: A threat to cotton in South Asia. Journal of Insect Science 12 (147):1-12.
- Khan, A. A, and Zaki F.A. 2008. Predatory response of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) feeding on the *Euonymus aphid*, *Aphis fabae* Solenella

- Theobald (Heiptera: Aphididae) in Kashmir. *Jornal of Biological Control* 22: 149-154.
- Liu H.Y. y J.H. Tsai.2000. Effects of temperatura on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, Kuwayama (Homoptera: Psyllidae). *Annals Applied Biology*, 137: 201-206.
- López-Arroyo, J.I. 2001. Depredadores de áfidos asociados a los cítricos en Nuevo León, México, pp. E-153. *En: Memorias XXXVI Congreso Nacional de Entomología. Querétaro, Qro., México*
- López-Arroyo, J.I., E. Cortez-Mondaca, H.C. Arredondo-Bernal, M. Ramírez-Delgado, J.Loera-Gallerdo y M.A. Mellin-Rosas. 2007. Uso de depredadores para el control biológico de plagas en México. *In: Rodríguez-del-Bosque, L.A. y H.C. Arredondo-Bernal (eds). Teoría y Aplicación del Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico, México.303 p.*
- López-Arroyo, J. I.; Jasso, J.; Reyes, M. A.; Loera-GallardO, J.; Cortez-Mondaca, E.; Miranda, M. A. 2008. Perspectives for biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Mexico. p. 289. *Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. Orlando, Florida.*
- López-Arroyo, J.I., M.A. Peña, M.A. Rocha-Peña y J. Loera. 2005. Ocurrencia en México del psílido asiático *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). *In: Memorias del VII Congreso Internacional de Fitopatología. Chihuahua, Chih, M{exico. Pp. C68.*
- López-Arroyo, J.I., C.A. Tauber, and M.J. Tauber. 1999. Comparative life-histories of the predators *Ceraeochrysa cincta*, *C. cubana*, and *C. smithi* (Neuroptera: Chrysopidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 92: 208-217.

- Lucas, E., Coderre, D.; Vincent, C. 1997. Voracity and feeding preferences of two aphidophagous coccinellids on *Aphis citricola* and *Tetranychus urticae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 85:151-159.
- Maia, A. De H.N., Luiz, A.J.B., and Campanhola, C. 2000. Statistical Inferences on associated lifetable parameters using jackknife technique: computational aspects. *J. Econ. Entomol.*, 93(2): 511- 518.
- McKenzie, C.L., and G. J. Puterka. 2004. Effect of sucrose octanoate on survival of nymphal and adult *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 97(3): 970-975.
- Manjunath, K.L., E. Halbert, C. Raamadugu, S. Webb, and R.F. Lee. 2008. Detection of “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” in *Diaphorina citri* and importance in the management of citrus huai in Florida. *Phytopathology* 98(4): 387-396.
- Matadha, D., Hamilton, G.C, Lashomb, J.H., and Zhang, J. 2005. Ovipositional preferences and functional response of parasitoids (*Commstok*) (Hom., Diaspididae). *Biological Control*, 32: 337-347.
- Michaud, J. P. 2001a. Numerical response of *Olla v-nigrum* (Coleoptera: Coccinellidae) to infestation of Asian citrus psyllid, (Hemiptera: Psyllidae) in Florida. *Florida Entomologist* 84: 608-612.
- Michaud, J. P. 2001b. Evaluation of green lacewing, *Chrysoperla plorabunda* (Fitch) (Neurop., Chrysopidae), for augmentative release against *Toxoptera citricida* (Hom., Aphididae) in citrus. *J. Applied Entomol.* 125: 383-388.
- Michaud, J. P., Olsen, L. E. 2004. Suitability of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, as prey for ladybeetle. *BioControl* 49:417-431.

- Michaud, J.P., and L.E. Olsen. 2004. Suitability of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, as prey for ladybbtles. *BioControl* 49: 417-431.
- Milonas, G. P.; Kontodimas, D. CH.; Martiniu, A. F. 2011. A predator's functional response: influence of prey species and size. *Biological Control* 59:141-146.
- Mora-Aguilar, G., Flores-Sánchez, J., Acevedo-Sánchez, G., Domínguez-Monge, S., Oropeza-Salin,C., Flores-Olivera, A., González-Gómez, R. y Robles-García, P. 2013a. Vigilancia Epidemiológica y Estatus Actual del Amarillamiento Letal del Cocotero, Punta Morada de la Papa y Huanglongbing de los Cítricos (HLB) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 31:S27-S32. *en*: XL Congreso nacional y XV Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología.
- Mora-Aguilar, G., Robles-García, P., López-Arroyo, J.I., Velázquez-Monreal, J., Flores-Sánchez, J., Acevedo- Sánchez, G., Domínguez-Monge, S. y González-Gómez, R. 2013b. Situacion Actual y Perspectiva del Manejo del HLB de los Cítricos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 31:S6-S13. *En*: XL Congreso nacional y XV Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología.
- Mushtaq, T., and A. Alikhan. 2010. Functional response of *Chrysoperla carnea* larvae (Neuroptera: Chrysopidae) to *Aphis pomi* and *A. craccivora* (Homoptera: Aphididae). *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 80 (1): 95-98
- Naranjo, S.E. 2001. Conservation and evaluation of natural enemies in IPM systems for *Bemisia tabaci*. *Crop protect*, 20: 835-832.
- New, T.R. 1975. The biology of Chrysopidae and Hemeroibiidae (Neuroptera), with reference to their usage as biocontrol agents: A review. *Transactions of the Royal Entomological Society of Londo*. 127: 115-140.

- New, T.R 1986. A review of the biology of the Neuroptera. Neuroptera International Supplement 1: 1-57.
- New, T. R. 2001. Introduction to the Neuroptera: What are they and How do they operate?. pp. 3-5. *In*: McEwen. P.K, T.R. New, A.E. Whittington (eds.) *Lancewings in the crop environment*. Cambridge University Press. 546p.
- Navarrete, B., D. Carrillo, A. Y. Reyes-Martinez, S. Sanchez-Peña, J.López-Arroyo, H.Mcauslane, and J.E.Peña. 2014. Efecto of *Zelus Longipes* (Heiptera: Reduviidae) on *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) under controlled conditions. *Florida Entomologist* 97(4): 1536-1543.
- Okuyama, T. 2012. Flexible components of functional responses. *Journal of Animal Ecology*, 81: 182-189.
- Pacheco-Rueda I.; Lomeli-Flores, J. R.; González-Hernández, H.; López-Arroyo, J. I.; Santillan-Galicia, M. T.; Romero-Napoles, J. 2012. Preferencia de presa de tres especies de *Chrysoperla* y *Ceraeochrysa valida* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre inmaduros del psílido asiático de los cítricos. En: Memoria del XXVII Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Puebla, Puebla, México.
- Parajulee, M.N., R.B. Shrestha, J.F.Leser,D.B .Wester, and C.A. Blanco. 2006. Evaluation of the Functional Response of selected Arthropod Predators on Bollworm egg in the laboratory and effect of temperature on their predation efficiency. *Environ. Entomol.* 35 (2): 379-386.
- Pappas, M.L., G.D. Broufas & D.S. Koveos. 2011. Chrysopid predators and their role in Biological Control. *Journal of Entomology*, 8(3): 301- 326.

- Papanikolaou, E. N. 2014. Digestion limits the functional response of an Aphidophagous Coccinellid (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 107 (2): 468-474.
- Principi, M. M.; Canard, M. 1984. Feeding habits, pp.76-92. *In*: Canard, M.; Sémeria, Y.; New, T.R. (eds.), *Biology of Chrysopidae*. Dr. W. Junk Publishers, The Hague, the Netherlands. 293p
- Pluker, R.W., J.A. Qureshi and P. A. Stansly. 2008. Citrus flushing patterns, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations and parasitism by *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Puerto Rico. *Florida Entomologist* 91(1): 36- 42.
- Ramírez, D. M. 2007. Distribución, abundancia, diversidad y atributos bioecológicos de especies de Chrysopidae (Neuroptera) asociados a frutales del centro y norte de México. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas. 157pp
- Reddy, G. V. P. 2002. Plant volatiles mediate orientation and plant preference by the predator *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae). *Biological Control* 25:49-55.
- Rice, M. S. E.; Cloyd, A. R.; Mahr, L. D.; Sadof, S. C. 2001. Biological control of insects and other pests of greenhouse crops. University of Wisconsin. North Central Regional. Publication 581. 102p.
- Rocha P., M.A., R.F. Lee, R. Lastra, C.L. Niblett, F. M. Ochoa C., S.M. Garnsey & R.K. Yokomi. 1995. Citrus tristeza virus and its aphid vector *Toxoptera citricidus*. *Plant Disease* 79: 437-445.

- Rocha.L. da, and Redaelli L.R. 2004. Functional response of *Cosmoclopius nigroannulatus* (Hem: Reduviidae) to different densities of *Spartocera dentiventris* (Hem. Coreidae) nypha. *Braz.J. Biol.*, 64(2): 309-316
- Rogers, D. 2014. Random search and insect population models. *Juornal of Animal Ecology*, 41(2): 369-383
- Sánchez-González, J. A.; Sánchez-Borja, M.; Arredondo-Bernal, H. C. 2011. Cría masiva, liberación y evaluación de campo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). En Memoria del II Simposio nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los cítricos y el Huanglongbing en México. 5 y 6 de diciembre, 2011. Edo. de México, Texcoco, México.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Institute Cary N. C. USA.
- Salcedo, B.D., H. González, y E.Vera. 2012. Análisis de la compañía contra el HLB en 2008, 2009 y 2010 bajo el enfoque del arco lógico. IICA, sagarpa, senasica, cef-profit México; IICA. 126 Pp.
- SENASICA. 2012. Detección de Huanglongbing (*Candidatus Liberibacter asiaticus*) en el Municipio de Tizimin Yucatán, México Dirección General de Sanidad Vegetal SAGARPA/SENASICA. Organización, Norteamericana de Protección a las plagas. Publicado: 07/08/2009. [En línea] disponibilidad en: www.pestalert.org [Consultado 24 de abril 2014].
- SENASICA. 2014. Huanglongbing de los cítricos. Actualizado: 28/07/2014. [En línea] disponibilidad En: www.senasica.gob.mx [Consultado 2 de diciembre 2014].
- SENASICA. 2009. Ficha técnica *Diaphorina citri*. SAGARPA-Dirección General de Sanidad Vegetal. En línea] disponibilidad en:

- SIAP. 2013. Producción agrícola por cultivo y por estado. México [En línea]. Disponible en <http://www.siap.gob.mx/index.php>. [Consultada 20 de junio de 2015].
- Sechler, A., E.L Schuenzel; P.Cooke; S.Donnua; N. Thaveechai; E. Postnikova; A.L. Stone; W.L. Schneider; V. D. Damsteegt y W.Schaadn. 2009. Cultivation of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca.L.africanus* and *Ca.L. americanus* associated with Huanglongbing. *Phytopathology*, 99 (5): 480-486.
- Sherestha, G.; Enkegaard, A. 2013. The green lacewing, *Chrysoperla carnea*: Preference between lettuce aphids, *Nasonovia ribisnigri*, and western flower thrips, *Fankliniella occidentalis*. *Journal of insect Science* 13 (94): 1-10.
- SIAP. 2013. Servicio de Información y estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Producción agrícola por cultivo y por estado. México. [En línea] Disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/arcomanuar.html>. (15 de diciembre de 2014).
- Soponagel, K & F. Díaz. 1994. El minador de las hoja de los cítricos *Phyllocnistis citrella*. Un insecto plaga de importancia económica de la citricultura de Honduras. Fundacion Hondureña de Investigación Agrícola. Honduras. 37 p.
- Sohail, A., A. Nisar, and R. K. Rasah. 2004. Studies on population dynamics and chemical control of citrus psylla, *Diaphorina citri*. *International Journal Agriculture and Biology*, 6: 970-973.
- Southwood, T.R.E., and P.A.Henderson. 2000. *Ecological methods*. Kluwer Academic Press, London.
- Tauber, M. J.; Tauber, C. A.; Daane, K. M.; Hagen, K. S. 2000. Commercialization of predators: Recent lessons from green lacewing (Neuroptera: Chrysopidae: *Chrysoperla*). *American Entomologist* 46: 26-38.

- Tauber, C. A.; Tauber, M. J.; Albuquerque, G. S. 2014. Debris-Carrying in Larval Chrysopidae: Unraveling Its Evolutionary History. *Annals of the Entomological Society of America*. 107 (2): 295-314.
- Trexler, J.C., C. E. E. C. E. EcCulloch, and J. Travis. 1998. How can the functional response best be determined?. *Oecologia* 76: 206-214.
- Trujillo A., J.H.M. Sánchez Anguiano y P.L R Garcia. 2008. Situación actual y perspectivas del Huanglongbing y el psílido asiático de los cítricos en México. *En: Resúmenes del Taller Internacional sobre Huanglongbing y el Psílido Asiático de los Cítricos*. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-SAGARPA, y Organización Norteamericana de Protección a las plantas.
- Tiwari, S., R.E. Mann, M.E. Rogers, and L.L. Stelinski. 2011. Insecticide resistance in field population of Asian Citrus Psyllid in Florida. *Pest Manag. Sci.*, 67: 1258-1268.
- Twixera, D.C., Dantet, J.L., Eveillard, S., Martins, E.C., Jesus Junior, W.C., Yamamoto, P.T., Lopes, S.A., Bassanezi, R.B., Ayres, A.J., Saillard, C., and Bové, J., 2005. Citrus Huanglongbing in Sao Paulo State, Brazil: PCR detection of the “Candidatus” *Liberibacter* species associated with the disease. *Mol. Cell. Probes* 19: 173-179.
- Valencia, L. L. A.; Romero, N. J.; Valdez C. J.; Carrillo, S. J. L.; López, M. V. 2006. Taxonomía y registros de Chrysopidae (Insecta: Neuroptera) en el estado de Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana* 22 (1):17-61.
- Van Driesche R.G, M.S. Hoddle, T.C. Center. 2007. Control de plagas y Malezas por enemigos naturales. United States Department of Agriculture, USDA Forest Service, USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team. 737pp
- Vázquez, N.J.M. & S.R. Muños. 2000. Fluctuación poblacional de crisópidos (Neuroptera: Chrysopidae) en huertas de nogal pecanero de la comarca lagunera. Pp.230-232. *In:*

- Torres, G.J.C., González, H.A., Salazar, S.E y S.J.L. Velasco (eds.). Memorias XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Guanajuato, Guanajuato, México
- Valencia, L. 2004. Estudio taxonómico de la familia Chrysopidae (Insecta: Neuroptera) en el estado de Morelos, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad. Montecillo, Estado de México
- Vizcarra-Valdez, J. A.; Sánchez-González, J. L.; González-Hernández, A.; Arredondo-Bernal, H. C. 2013. Parámetros biológicos en el control de calidad en la producción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). *Vedalia* 14(1): 31-34.
- Villalobos, W., C. Godoy, and C. Rivera. 2004. Occurrence of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae), the vector of Huanglongbing, in Costa Rica. Pp. 509. In: M. E. Hilf. N. Duran-Vila and M.A. Rocha-Peña (eds.). Proceedings of the XVI Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Monterrey, México.
- Xu, C., Y. Xia, K. Li and C. Ke. 1990. Study on latent period of pathogen of citrus Huanglongbing in citrus psylla, *Diaphorina citri* . *Acta Phytopathologica Sinica* 20(1): 25-31.
- Yamamoto, P.T. 2008. Controle de insectos vetores de bacterias causadoras de doencas em citros. In Pages 237-260. In Pedro Takao Yamamoto. (Org.) Manejo integrado de pragas dos cítricos. 1ª ed. Piracicaba, SP. Brazil.