

# MANUAL DE REPRODUCCIÓN MASIVA DE *Tamarixia radiata*

*Principal parasitoide del psílido asiático  
de los cítricos, vector del HLB*



Juntos alimentamos el futuro de México.

**SAGARPA**  
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,  
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,  
PESCA Y ALIMENTACIÓN



**SENASICA**  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,  
INCLUSIÓN Y CALIDAD  
AGROALIMENTARIA



MANUAL DE  
REPRODUCCIÓN MASIVA DE  
*Tamarixia radiata*

---

PRINCIPAL PARASITOIDE DEL PSÍLIDO  
ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS,  
VECTOR DEL HLB







Primera edición 2015 Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (SENASICA)

Diseño Editorial Unidad de Promoción y Vinculación - SENASICA  
ISBN:

Reservados todos los derechos. No se permite la reproducción, total o parcial de este libro ni el almacenamiento en un sistema informático, ni la transmisión de cualquier forma o cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopia, registro u otros medios sin el permiso previo y por escrito de los titulares del copyright.

# **Directorio**

**Lic. José Eduardo Calzada Roviroa**  
**Secretario de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural,**  
**Pesca y Alimentación.**

**M.V.Z. Enrique Sánchez Cruz**  
**Director en jefe del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y**  
**Calidad Agroalimentaria.**

**Dr. Francisco Javier Trujillo Arriaga**  
**Director General de Sanidad Vegetal.**

**M.C. José Abel López Buenfil**  
**Director del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria.**

**M.C. Hugo César Arredondo Bernal**  
**Subdirector del Centro Nacional de Referencia**  
**de Control Biológico**

Centro Nacional de Referencia de Control Biológico  
Km 1.5 Carretera Tecomán-Estación FFCC  
Col. Tepeyac. C.P. 28110  
Tecomán, Col. México  
Tel: (313) 324 0745  
Fax: (313) 324 2773  
Correo electrónico: [hugo.arredondo@senasica.gob.mx](mailto:hugo.arredondo@senasica.gob.mx)

## ***Dirigido por:***

***M.C. Hugo Cesar Arredondo Bernal***

## ***Elaborado por:***

***Ing. Jorge Antonio Sánchez González***

***Biol. Nora Isabel Vizcarra Valdez***

***Ing. Gabriel Moreno Carrillo***

***Ing. Raul Antonio Alpizar Puente***

***Biol. Yadira Contreras Bermúdez***

***Biol. Denise Esmeralda Sandoval Rodríguez***

***Dr. Martín Palomares Pérez***

***Dr. Jaime González Cabrera***

***Biol. Nancy Inés Medina García***

***Biol. Esther Gisela Cordoba Urtiz***

***Departamento de Insectos Entomófagos del CNRCB  
CNRF-DGSV-SENASICA***

## ***Agradecimientos por su revisión a:***

***Dr. Alejandro González Herndandez (UANL)***

***Dr. Esteban Rodríguez Leyva (Colegio de Postgraduados)***

***Dr. José Refugio Lomelí Flores (Colegio de Postgraduados)***

# CONTENIDO GENERAL

• INTRODUCCIÓN	9
• PLANTA HOSPEDERA, MIRTO O LIMONARIA ( <i>Murraya paniculata</i> L.)	12
• Generalidades	12
• Materiales e insumos básicos para la producción de limonaria	13
• Procedimientos para el cultivo de <i>Murraya paniculata</i>	15
• Obtención y recolecta de semilla	15
• Despulpe del fruto	16
• Secado de semilla	16
• Preparación del sustrato para siembra, germinación y desarrollo de la plántula	17
• Siembra	18
• Trasplante	19
• Riego	19
• Fertilización	20
• Control de plagas	20
• Podas	22

• HUÉSPED, EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS ( <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama)	24
• Generalidades	24
• Procedimientos para la cría	26
• Recolecta de adultos y pie de cría	26
• Infestación	27
• Maduración	28
• EL PARASITOIDE, <i>Tamarixia radiata</i> (Waterston)	31
• Generalidades	31
• Procedimientos de cría	35
• Obtención del pie de cría	35
• Parasitación de ninfas de <i>D. citri</i>	35
• Corte de brotes	36
• Extracción y recolecta del parasitoide	37
• Almacenamiento	39
• Control de calidad	39
• Empaque de parasitoides para liberación	42



• LIBERACIÓN Y EVALUACIÓN	45
• Generalidades	45
• Procedimientos de liberación	47
• Materiales	47
• Muestreo para evaluación	50
• Obtención del porcentaje de parasitismo	51
• Anexos	
• Anexo 1. Hoja de registro de liberación de <i>Tamarixia radiata</i> en campo	52
• Anexo 2. Hoja de registro de recibo de material biológico	53
• Anexo 3. Formato de registro de muestras.	54
• LITERATURA CITADA	55



# INTRODUCCIÓN

Ante la problemática que representa el Huanglongbing o HLB de los cítricos y su vector el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), el gobierno de México a través de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), desarrolló un Programa de Control Biológico de esta plaga basado en la búsqueda, reproducción, liberación y evaluación de sus principales agentes de control biológico, entre los cuales destaca el parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). Dicho programa representa una estrategia de manejo adaptable a condiciones y necesidades específicas, como la atención en áreas donde no es posible ejercer efectivamente algún otro método de control de plagas agrícolas, como áreas urbanas y huertos abandonados.

El contenido de este manual proporciona, paso a paso, el proceso de reproducción masiva del parasitoide del psílido asiático de los cítricos, con el objetivo de dar a conocer los conceptos principales del proceso de reproducción y así proporcionar las bases para aquel interesado en establecer una cría de este organismo benéfico, así como avanzar en el proceso de estandarización de la metodología de reproducción. Este documento representa una recopilación de experiencias de más de seis años de trabajo del personal del Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *Tamarixia radiata* del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), ubicado en Tecomán, Colima, México.

El proceso de reproducción consta de tres pilares: el cultivo de la planta hospedera, la reproducción masiva del psílido asiático de los cítricos y la multiplicación del parasitoide. Adicionalmente se debe conocer la metodología de establecimiento y mantenimiento del pie de cría, liberación y evaluación del parasitoide; por lo anterior estos aspectos también se incluyen en este manual.



# **Murraya paniculata L.**

**La planta hospedera y  
base del proceso**





# LA PLANTA HOSPEDERA, MIRTO O LIMONARIA (*Murraya paniculata* L.)

## Generalidades

El mirto o limonaria es una planta nativa del sureste de Asia, pertenece a la familia Rutaceae; es perenne de hojas compuestas con folíolos pequeños, sus flores son blancas y aromáticas. Los frutos son bayas oblongas rojo-anaranjadas y el mesocarpo presenta una consistencia mucilaginoso fácil de desprender; cuando están maduros tienen dos embriones. En la región de Colima y Yucatán, México, la maduración de los frutos se presenta al final del invierno y en menor cantidad a final del verano. La planta es de crecimiento arbustivo y tiene uso ornamental, por lo que se encuentra en traspatios, zonas urbanas, panteones, parques y jardines. También se utiliza como planta para follaje de corte, cercas vivas y barreras rompe vientos. En el sureste de México se le da un uso religioso y decorativo en ofrendas o altares. Se dice que tiene usos medicinales y funciona como anestésico.

La limonaria es considerada como el hospedero más común de *Diaphorina citri* (Halbert y Manjunath 2004, Skelley y Hoy 2004); además la tasa de oviposición de *D. citri* sobre *M. paniculata* es

### Taxonomía de la planta

Nombre común:	Mirto, Limonaria, Jazmín de la India, Azahar de la India, Orange Jasmine, Mirta.
Orden:	Sapindales
Familia:	Rutaceae
Género:	<i>Murraya</i>
Especie:	<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack
Sinónimos:	<i>Murraya exotica</i> L., <i>Chalcas exotica</i> (L.) Millsp., <i>Chalcas paniculata</i> L.

mayor que en otros hospederos cítricos (Nava et al. 2007). Es una planta de fácil manejo debido a que no posee espinas, es de porte bajo y de rápido crecimiento y brotación (características deseables en el proceso de producción de *T. radiata*), en comparación con otras especies de la familia Rutaceae.

En observaciones directas por parte del personal que labora en los laboratorios de reproducción masiva de *Tamarixia radiata* del SENASICA en Colima y Yucatán, México, se ha corroborado la preferencia de *D. citri* hacia plantas de *M. paniculata* en comparación con *Citrus* spp. y gran tolerancia a las condiciones de manejo como podas continuas y alta infestación de psílicos.

Las plantas de *M. paniculata* que se han rehusado hasta cuatro veces producen la misma cantidad de brotes y son igualmente aceptadas como sustrato de oviposición que las plantas de primer uso (González-Cabrera et al. 2013).

## Materiales e insumos básicos para la producción de limonaria

Los materiales básicos para iniciar la producción de mirto o limonaria pueden variar de acuerdo a la región de trabajo (Cuadro 1). Los materiales e insumos mencionados son un ejemplo de lo que se emplea como base para la reproducción de esta planta en el Laboratorio de Reproducción Masiva de *T. radiata* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico en Colima, México.

Cuadro 1. Materiales e insumos básicos para la producción de plantas de *Murraya paniculata*.

Materiales	Uso/Propósito
Agua de riego (pH cercano a 7; baja o moderada salinidad (clasificación C1 - C2); baja a moderada en sodio (clasificación S1 - S2)	Riego de plantas, aplicaciones de insumos, limpieza de materiales y otros

Semillas de <i>Murraya paniculata</i>	Producción de plántulas
Suelo con textura franco, franco arenoso o franco limoso	Sustrato base, soporte principal de la planta y fuente de nutrientes
Composta, vermicomposta, o cualquier suplemento de acuerdo a las condiciones de la región	Complemento nutricional del sustrato y de las propiedades físicas del suelo
Polvillo de coco lavado, bagazo de henequén, entre otros	Materiales para brindar estructura y retención de humedad
Cernidor o tamiz para tierra	Tamizar y limpiar materiales para sustrato
Palas	Para mezclar y homogenizar el sustrato
Charolas de germinación de 200 cavidades	Siembra y germinación de semillas
Polietileno negro	Para acelerar germinación de semillas
Regadera de mano	Para regar las charolas y almácigos
Manguera para riego (según distancia entre la toma de agua y la posición de las plantas)	Riego de planta adulta
Cubetas de 20 litros	Varios
Macetas negras de polietileno de 2 Kg	Establecimiento y mantenimiento de planta
Carretillas	Transportar materiales diversos
Fertilizantes sólidos (elementos primarios N, P y K)	Nutrición en etapa inicial de desarrollo de las plantas
Fertilizantes foliares (macroelementos y microelementos)	Nutrición en etapa de crecimiento y desarrollo de las plantas
Tijeras (manuales)	Poda de plantas
Jabón en polvo	Lavado de plantas para el control de plagas, contaminantes y/o residuos
Fungicidas contra el ahogamiento o secadera de plántulas	Control de hongos en post-siembra y post-trasplante
Insecticidas	Control de insectos plaga durante todo el ciclo

Herbicidas	Control de malezas en caminos y perímetros
Grava o acolchado	Evitar la salida de malezas y encharcamientos
Dos estructuras protegidas por malla antiáfidos de 480 metros cuadrados como mínimo	Protección y mantenimiento de plantas
Dos mochilas aspersoras de 20 litros	Aplicación de insumos
Recipientes de plástico de un litro	Riego manual de plantas en producción
Papel periódico	Para secado de semilla

## Procedimientos para el cultivo de limonaria

### Obtención y recolecta de semilla

La recolecta de semilla de limonaria se realiza en lugares con presencia de plantas madre con frutos, por lo general en zonas urbanas. El periodo de recolecta más importante se realiza a finales del invierno y en menor cantidad a finales del verano, temporadas en las que los frutos de limonaria se encuentran maduros (color rojo-anaranjado) (Figura 1).

Las características principales de una planta madre apropiada para recolectar semillas son:

- Planta joven y vigorosa.
- Libre de plagas, enfermedades o deformación alguna.

- Follaje verde oscuro, sin deficiencias nutricionales visibles.
- Buena carga de flores y frutos.

La recolecta se hace a mano tomando sólo los frutos maduros.

## Despulpe del fruto

Se realiza con un tamiz o superficie rugosa que permita el desprendimiento de la pulpa al friccionar el fruto. Se enjuaga con agua las veces que sea necesario para retirar los restos de la pulpa y que la semilla quede lo más limpia posible para el secado.

## Secado de la semilla

La semilla se coloca en papel secante en un lugar fresco y seco, a la sombra para evitar la deshidratación (20-25°C). El papel debe ser cambiado diariamente por uno nuevo por un lapso de 3 a 4 días o hasta que la semilla se encuentre completamente seca. La semilla en el papel secante debe moverse constantemente para evitar el desarrollo de patógenos; una vez seca se coloca en recipientes de plástico con ventilación en un lugar fresco y seco (Figura 2).



Figura 1.  
Frutos de limonaria recolectados para la obtención de semilla.

Para conservar la germinación (al menos 50%) hasta por 21 meses, las semillas recién recolectadas se deben despulpar, lavar y secar hasta que su peso seco sea 40%, empaquetar en recipientes sellados, adicionar 25 g de sílica gel por cada 100 g de semilla seca y almacenar a 5°C (González-Cabrera, datos sin publicar)



## Preparación del sustrato para siembra, germinación y desarrollo de la plántula

Como en la mayoría de las plantas, un sustrato para siembra y germinación debe brindar porosidad y retención de humedad a la semilla y plántula. Los insumos empleados para la germinación y desarrollo de plántulas de limonaria son el suelo franco a franco-limoso como base; polvillo de coco o bagazo de henequén o cualquier otro material que ayude en la retención de humedad en el sustrato. En caso de ser necesario se puede usar un complemento nutricional para el sustrato; cualquier tipo de composta o materia orgánica en baja proporción ayuda al desarrollo de las plántulas. Para la siembra se puede utilizar sustrato comercial o preparar una mezcla que funcione como sustrato de siembra y germinación. Dicha mezcla se realiza con los insumos antes mencionados en la proporción 3:1:0.5 (suelo franco a limoso: polvillo de coco: composta) o 3:1 (suelo rico en materia orgánica: polvillo de coco).

Para la siembra y germinación de semillas de limonaria se pueden emplear charolas de germinación de 200 cavidades o almácigos (Figura 3). Las charolas de germinación de 200 cavidades son efectivas cuando no se tiene el espacio suficiente para construir almácigos (las condiciones adecuadas para la germinación de la semilla son  $30^{\circ}\text{C} \pm 3$ ; 50-60% HR; 30 msnm). Si la opción es emplear almácigos o camas de siembra es necesario hacer la se-



Figura 2.  
Semillas de limonaria  
listas para siembra.

lección del sitio donde se establecerá el almácigo (lugar sombreado con disponibilidad de agua); una vez seleccionado el sitio, se procede a retirar una o dos palas de suelo (20 a 30 cm de profundidad) para tener espacio al momento de voltear y mezclar los ingredientes del sustrato con el resto de la superficie de la cama de siembra. Una vez hecha se le da forma al almácigo, las medidas a lo largo de la cama pueden variar en función del espacio disponible y la cantidad de plántula que se desee obtener, pero la medida del ancho debe ser de un metro como máximo para permitir el mantenimiento de las plántulas.

## Siembra

Si la siembra se realiza en charolas de 200 cavidades se recomienda colocar una semilla por cavidad, a una profundidad de 1.5 a 2 cm. El riego deberá ser con extremo cuidado para no sacar las semillas accidentalmente. Posteriormente, las charolas sembradas se deben colocar en un lugar adecuado para la germinación y libre de posibles factores que dañen el desarrollo de las plántulas (plagas, radiación solar, humedad excesiva). De ser necesario, se coloca un polietileno negro sobre las charolas con la finalidad de aumentar la temperatura y acelerar la germinación; el polietileno se deja aproximadamente de 8 hasta 10 días, mismo que es removido diariamente para regar y monitorear la germinación.



Figura 3.  
Germinación de plántulas de  
*M. paniculata* en almácigos.

La siembra en almácigo (Figura 4) brinda la posibilidad de tener un buen desarrollo de las plántulas y aumentar el tiempo de espera para el trasplante. Se recomienda realizar la siembra al voleo para después cubrirla con el mismo sustrato (2 cm de profundidad), posterior a esto se aplica un riego ligero para evitar destaparlas. Si es necesario también se puede cubrir el almácigo con polietileno negro durante 8 a 10 días.

## Trasplante

Cuando las plántulas tengan 10 cm de altura o presenten las dos primeras hojas verdaderas (2 meses después de la siembra) se pueden trasplantar en bolsas de siembra o macetas de 2 Kg de capacidad, usando el mismo sustrato que se empleó para la siembra. Cabe señalar que el manejo de las plántulas debe ser breve para evitar el estrés del material en el momento de extraerlas de la charola o cama de siembra, hacia la bolsa o maceta donde permanecerán el resto de su ciclo, también se deberá tener cuidado de no romper el sistema radicular de la plántula al momento de extraerla; se recomienda realizar el trasplante a una hora temprana del día.

## Riego

El riego se realiza cada dos o tres días según la necesidad de la planta y las condiciones ambientales, puede realizarse de varias formas: manual o auto-



Figura 4.  
Siembra de *M. paniculata*  
en almácigos.

130 g de composta después de cada poda produce una mayor cantidad de brotes en plantas de *M. paniculata* (Cordoba-Úrtiz et al. 2013).

matizado. Desde la siembra hasta el trasplante se recomienda el uso de una regadera de mano para no ejercer presión sobre el sustrato ni extraer las semillas. El riego debe controlarse mejor cuando las plantas se encuentren en explotación, es decir, cuando están dentro de cubos de cría de *D. citri* y *T. radiata*.

Es recomendable no saturar las plantas de agua durante el desarrollo vegetativo, ya que se ha observado que el estrés moderado de agua fomenta la brotación en la plantas de limonaria, situación que favorece la infestación de las plantas por el psílido e incrementa la productividad de parasitoides.

## Fertilización

La fertilización de esta planta se basa en el uso de composta y se realiza desde la preparación del sustrato y hasta los dos meses después de la siembra, y después de cada poda. Es necesario evaluar la dosis adecuada de cada fertilizante nuevo por aplicar, calendarizar, registrar las aplicaciones y determinar las necesidades de las plantas a través de la sintomatología de deficiencias o desarrollo.

## Control de plagas

Las plagas más comunes que se encuentran en la producción de plántulas de limonaria son pulgones, mosca negra, escamas de nieve, escamas blandas, caracoles, ranas, larvas defoliadoras y hormigas (Figura 5); entre las principales enfermedades está

La composta es un fertilizante orgánico sólido que se obtiene de la mezcla de elementos de origen animal, vegetal y mineral, mediante la reproducción masiva de bacterias aeróbicas. Es un nutriente inocuo, balanceado, regulador y corrector de suelos, con elevada digestibilidad por su gran carga enzimática y bacteriana.

el ahogamiento de plántulas y antracnosis en brotes nuevos. Se recomienda monitorear las plántulas constantemente para detectar la aparición de estas enfermedades y actuar de forma preventiva, sobre todo en la temporada de lluvias. Es recomendable hacer aplicaciones de insecticidas y fungicidas sólo cuando sea necesario (Cuadro 2).

El contaminante más común es la fumagina y para controlarla se aplica sólo agua con jabón al 5%, en caso de persistir se recomienda la aplicación de Captan. A los dos días de que se le haya realizado la aplicación de jabón o Captan, se deben asperjar con agua para eliminar residuos.



Figura 5.  
Escama de nieve sobre el tallo de una planta de *M. paniculata*.

Cuadro 2. Productos recomendados para el control de plagas y enfermedades en el cultivo de *M. paniculata* para la producción del parasitoide *Tamarixia radiata*.

Producto o ingrediente activo	Plaga o enfermedad
Jabón líquido o en polvo al 3%	Pulgones y escamas
Azadiractina (neem)	Defoliadores
Aceites minerales	Pulgones y escamas
Diazinón granulado +	Mosca negra y hormigas
Cipermetrina +	Pulgones, escamas y defoliadores
Previcur (propamocarb)	Ahogamiento de plántulas
Captan o sulfato de cobre	Antracnosis

+ Se recomienda la aplicación de estos productos cuando el nivel de infestación sea alto y tomar en cuenta los intervalos de seguridad y residualidad de los productos.



## Podas

La primer poda se realiza a los 7 u 8 meses después de la siembra, o cuando la planta alcanza los 30-40 cm de altura. Esta se realiza cortando los primeros 5 cm de la parte apical en el único brote de la planta; la poda de plantas ya en uso se realiza de la misma manera pero cortando las partes apicales de las hojas compuestas, puntas de ramas y las ramas viejas, también en ocasiones es necesario eliminar ramas en exceso para dejar espacio y lugar para la nueva brotación.

La intensidad óptima de luz para el desarrollo de las plantas de *M. paniculata* es 6,900 lux aproximadamente.

**“La producción constante y el abastecimiento oportuno de plantas hospederas adecuadas es la base del proceso de reproducción masiva de *Tamarixia radiata*.”**

# ***Diaphorina citri*** **Kuwayama**

---

***Sin el huésped no hay  
parasitoide***



# EL HUÉSPED, EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS, (*Diaphorina citri* Kuwayama)

## Generalidades

*Diaphorina citri* es considerada la plaga más devastadora a nivel mundial para los cítricos porque transmite la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. causante de la enfermedad llamada Huanglongbing (HLB). El HLB es originario de Asia, probablemente de China, fue reportada en el Hemisferio Occidental desde 2004 en São Paulo, Brasil, y más tarde en 2005 en Florida, EE.UU. El HLB en México se reportó por primera vez en 2009 en Yucatán; para 2015 está presente en 16 entidades productoras de cítricos.

El psílido asiático de los cítricos es un insecto que durante su alimentación extrae grandes cantidades de savia y produce abundante mielecilla, ésta cubre la superficie de la hoja y sirve de sustrato para el crecimiento de fumagina. Durante su alimentación inyectan toxinas a las plantas, mismas que detienen el crecimiento de los brotes y deforman las hojas (Michaud 2004). Una sola ninfa, alimentándose por menos de 24 horas, es capaz

### Taxonomía del psílido

Clase:	Insecta
Orden:	Hemiptera
Sub-orden:	Sternorrhyncha
Super-familia:	Psylloidea
Familia:	Liviidae
Género:	<i>Diaphorina</i>
Especie:	<i>Diaphorina citri</i> Kuwayama

de provocar una malformación de la hoja tanto joven como madura. No obstante, el principal daño que puede causar *D. citri* es la transmisión del HLB (EPPO 2011).

El psílido puede transmitir el patógeno con una eficiencia de sólo el 1%, asignándose este rol a las ninfas de cuarto y quinto ínstar y a los adultos, estos adquieren la bacteria patógena después de haberse alimentado de una planta enferma durante 30 minutos o más (Chiou-Nan 1998). El patógeno permanece latente en el interior del insecto entre tres y 20 días, momento en que se le puede detectar en las glándulas salivales (Huang *et al.* 1984). Una vez que el insecto haya adquirido el patógeno es capaz de transmitirlo durante toda su vida; sin embargo, no puede pasar a la progenie a través de los huevos (Xu *et al.* 1990).

El ciclo de vida dura de 20 a 40 días de acuerdo a las condiciones climáticas (Figura 6). El huevo de 0.3 mm es ovoide amarillo a anaranjado. Pasa luego por cinco instares ninfales con ojos rojos y antenas negras, las ninfas son móviles. El adulto es pequeño, de 2 a 3 mm de longitud. Se diferencia de otras especies reportadas para *Citrus* por el patrón de coloración del ala, la que presenta manchas pardas oscuras en el borde y el centro claro y por la posición que adopta el cuerpo en reposo formando un ángulo de 45° (Augier *et al.* 2006).

El tiempo requerido por *D. citri* para completar su ciclo de vida en las áreas de cría en el CNRCB en Colima, sobre plantas de *M. paniculada*, es de



Figura 6.  
Estados biológicos de *Diaphorina citri*. Izquierda a derecha: huevo, ninfas de primero, segundo, tercero, cuarto, quinto ínstar y adulto (CNRCB 2010).



52.7±5.5 días. El estado de huevo y los dos primeros ínstares ninfales son los más sensibles a los factores que imperan en los cubos de producción del CNRCB (temperaturas de 17.9 a 42.4 °C y HR de 24.8 a 98.9%) (Palomares-Pérez *et al.* 2013). En estudios realizados en los invernaderos de producción se determinó que el periodo de oviposición puede tener un rango de 34.9±0.5 días para la época de verano y de 47.3±13 días para invierno, donde una hembra de *D. citri* es capaz de colocar más de 500 huevos, no obstante el rango normal de oviposición se reduce a solo 21 días, siendo entre los 10 y 15 días cuando se pone el mayor número de huevos por hembra por día; además en este periodo se mantiene una eclosión de los huevos aceptable (61.8 %) (Palomares-Pérez *et al.* 2013).



Figura 7.  
Estructura tipo invernadero.

## Procedimientos para la cría

### Recolecta de adultos y pie de cría

Para establecer un pie de cría de *D. citri* es necesario tener una estructura tipo invernadero cubierto con malla antiáfidos, equipada con puertas de doble acceso y cortinas de aire para evitar escape de los insectos (Figura 7); dentro de este se colocan plantas ya sean de cítricos, mirto o mixto (Figura 8); estas deben ser previamente podadas para estimular la brotación, una vez obtenidos los brotes se inicia la recolecta del psílido. La recolecta de adultos se realiza con ayuda de un aspirador bucal; el aspirador está compuesto por un tubo vial de 5 cm de alto por 2.5 cm de diámetro con 2 perfora-



Figura 8.  
Cultivo de limón  
hospedero de *D. citri*.

ciones en la tapa en los cuales se introducen 2 trozos de manguera transparente de una pulgada de 25 cm de largo; en el extremo de la manguera de succión lleva colocado una punta de micro pipeta y en la manguera de aspirado lleva un trozo de tela de organza para evitar el paso de los insectos al momento de aspirar (Figura 9).



Figura 9.  
Aspirador bucal entomológico.

Otra manera de obtener psílido adulto es recolectar *D. citri* en estado ninfal, para esto se utilizan tijeras de podar, se cortan brotes con ninfas y se traslada dentro de hieleras con geles refrigerantes envueltos en periódico (este proceso se realiza para mantener los organismos a una temperatura constante y evitar la deshidratación); los psíidos adultos son liberados en el área destinada para el pie de cría y los brotes con ninfas son colocados sobre los brotes de las plantas del pie de cría.

## Infestación

Para iniciar la producción masiva de *D. citri* con fines de ser parasitado por *T. radiata* se utilizan cubos de cría (jaulas de acero inoxidable de 70 cm de alto × 70 cm de largo × 70 cm de ancho cubiertas con malla antiáfidos, una malla de acero en la base como soporte y una abertura en la parte lateral que sella con velcro) (Figura 10). Estos cubos se mantienen en el interior de una estructura tipo invernadero destinado para el proceso de infestación del psílido sobre las plantas de *M. paniculata*.

Los brotes óptimos para infestar con *D. citri* son de 5 a 10 cm de longitud (Palomares-Pérez et al. 2013).



Dentro de un cubo de cría se colocan nueve plantas de *M. paniculata* con brotes nuevos de 5 a 10 cm de longitud (podada unos siete días antes), se recolectan 200 psílicos del pie de cría de nueve días de edad con un aspirador y los organismos son colocados sobre las plantas de *M. paniculata*. Los psílicos se mantendrán allí sólo por siete días, este tiempo se da para que el psílido oviposite en los brotes y permita obtener ínstares ninfales heterogéneos. Pasando los siete días de infestación, estos psílicos adultos se retiran (nuevamente con ayuda del aspirador) dejando a las plantas sólo con huevos y ninfas de los primeros ínstares (Figura 11).



Figura 10.  
Cubos de cría.

## Maduración

Una vez que las plantas presentan huevos y ninfas de los dos primeros ínstares, son trasladadas al área de maduración, donde se dejan entre cuatro y cinco días (esto permite que la mayoría de las ninfas alcancen los ínstares cuarto y quinto, ya que son los ideales para ser parasitados); una vez alcanzado los ínstares adecuados, las plantas son trasladadas al área donde se pondrán en contacto con el parasitoide.

En la parte apical cuadrante foliar de plantas de 36 cm de altura que han sido infestadas con  $312 \pm 50$  huevos de *D. citri*, se registra el  $51.7 \pm 4.2\%$  de toda la oviposición.

Se recomienda un régimen de 18 horas luz para promover mayor oviposición (Gonzalez-Cabrera et al.2013).

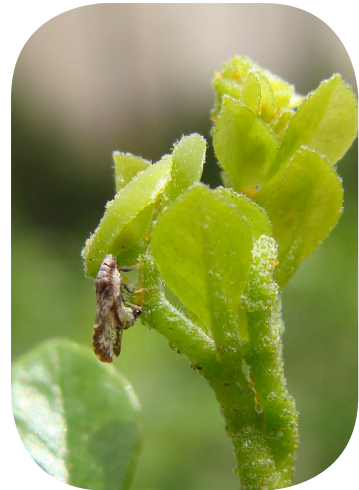


Figura 11.  
Brote infestado con  
huevos de *D. citri*.

“El conocimiento del ciclo biológico del psílido y la reproducción constante y suficiente de ninfas es indispensable para continuar con el proceso de reproducción masiva de *Tamarixia radiata*.”

# ***Tamarixia radiata*** **(Waterston)**

**El parasitoide,  
producto final**



# EL PARASITOIDE, *Tamarixia radiata* (Waterston)

## Generalidades

*Tamarixia radiata* es un ectoparasitoide, originario del continente asiático, actualmente se encuentra distribuido en todo el mundo. Se describió por primera vez en la India y ha sido registrado en Vietnam (Myartzeva y Trijapitzyn 1978), Arabia Saudita (Aubert 1984), Nepal (Lama et al. 1988), China (Tang 1989), Indonesia (Nurhadi 1989), Malasia (Lim et al. 1990), Tailandia (Qing y Aubert 1990) y Japón (Kohno et al. 2002).

Este parasitoide tiene la habilidad de adaptarse a diferentes condiciones; debido a ello se ha utilizado ampliamente en programas de control biológico contra *D. citri*. Es un parasitoide primario que deposita sus huevos en la parte ventral de las ninfas de *D. citri*, entre el tórax y el abdomen (Figura 12). Inmediatamente después de la emergencia, las larvas del parasitoide se alimentan succionando fluidos en el sitio donde está unido al huésped (Figura 13), hasta propiciar la momificación del mismo. La pupa del parasitoide se mantiene externa a la superficie ventral de su huésped (Figura 14) y el adulto generalmente emerge por debajo de la

### Taxonomía del parasitoide

Nombre común:	Parasitoide del psílido asiático de los cítricos
Orden:	Hymenoptera
Familia:	Eulophidae
Género:	<i>Tamarixia</i>
Especie:	<i>Tamarixia radiata</i> (Waterson)



zona cefálica de la ninfa momificada o a través de un agujero que realiza con sus mandíbulas en la parte dorsal del tórax (Figura 15).

El cuerpo de *T. radiata* mide un milímetro de longitud; es café oscuro, excepto por los ojos rojizos, mientras que las antenas, patas y marcas en los terguitos basales y medios del gáster son amarillos. Las características taxonómicas más importantes utilizadas en la identificación de adultos de *T. radiata* son: presencia de dos setas adnotaulares distinguibles y casi del mismo tamaño en el lóbulo medio del mesoescudo, una ubicada en la mitad anterior del mesoescudo y la otra en la mitad posterior. El escutelo posee dos surcos submedios y dos sublaterales distintivos; junto a los surcos submedios se encuentran dos pares de setas; propodeo con una carina media en forma de “Y” invertida y sin carinas laterales cerca del espiráculo. En las alas anteriores, la vena marginal es más corta que la celda costal, la cual a su vez es larga y angosta con 5 setas pequeñas; vena submarginal con una seta dorsal. El borde apical de las tibias posee tres espinas cortas y gruesas; la parte interna de los basitarsos anteriores tienen 3 setas arregladas en línea. Las antenas tienen ocho segmentos (clava de 3 segmentos); disposición de los ocelos en ángulos obtusos; longitud del espacio malar casi igual a la amplitud de los ojos. La genitalia del macho es distinguible, edeago alargado y a menudo visible, el dígito 4 a 6 veces su amplitud y la espina apical curvada continúa en el borde externo (Schauff et al. 1997, Khan et al. 2005).

El parasitoide *T. radiata* presenta metamorfosis



Figura 12.  
Huevo del parasitoide  
*T. radiata*



Figura 13.  
Larva del parasitoide  
*T. radiata*.



completa (Figura 16), presenta dimorfismo sexual distinguible en las antenas, las antenas de los machos son de 1 a 5 veces más largas y plumosas que en las hembras (Figura 17 y 18) (Onagbola *et al.* 2009).



Figura 14.  
Pupa del parasitoide  
*T. radiata*.



Figura 15.  
Orificios de emergencia del  
parasitoide *T. radiata*.

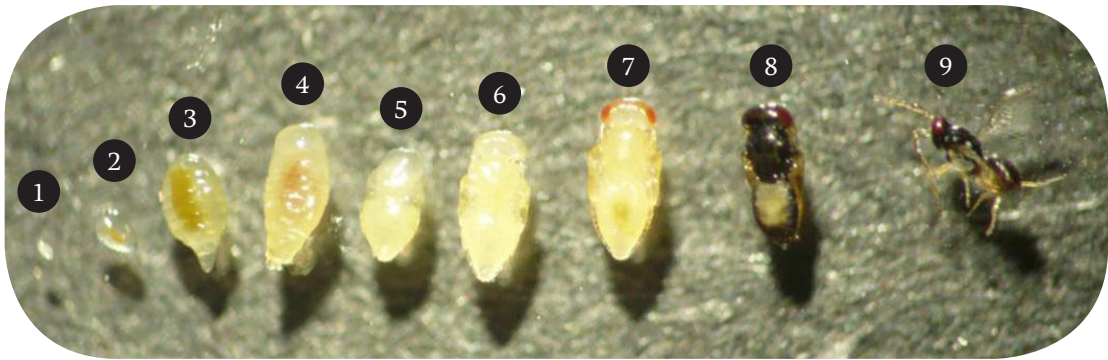


Figura 16. Ciclo biológico de *Tamarixia radiata*; 1-Huevo, 2-Larva de primer ínstar, 3-Larva de segundo ínstar, 4-Larva de tercer ínstar, 5 al 7-Prepupa, 8-Pupa, 9-Adulto (CNRCB, 2010).

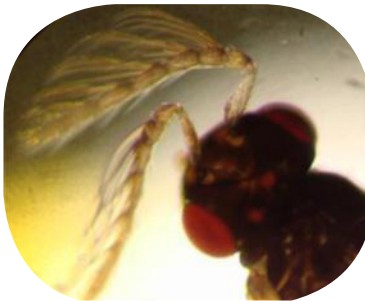


Figura 17.  
Antena de macho de  
*T. radiata*.



Figura 18.  
Antena de hembra de  
*T. radiata*.

## Procedimientos de cría

### Obtención del pie de cría

Se deben recolectar ejemplares de *T. radiata* en campo en cada región donde se planea reproducir, con la finalidad de tener material adaptado a las condiciones ambientales de cada lugar. La obtención de parasitoides puede realizarse de dos maneras: recolectando adultos o recolectando ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*. La recolecta de adultos se realiza directamente en campo con aspiradores bucales; para el caso de la recolecta de ninfas parasitadas se recolectan brotes vegetativos en campo, posteriormente se espera a que emerjan los adultos y se recolectan. Los adultos recolectados, así como los parasitoides emergidos de los brotes deben determinarse taxonómicamente, para evitar la introducción de insectos no deseados que puedan contaminar el pie de cría.

### Parasitación de las ninfas de *D. citri*

La producción del parasitoide se realiza bajo una estructura protegida tipo invernadero, donde se colocan una serie de trampas amarillas que permiten la captura de los psílidos que escapan del manejo. Una vez que las plantas de *M. paniculata* tienen ninfas de *D. citri* en el ínstar adecuado para ser parasitadas (ninfas de tercer a quinto ínstar), se exponen a *T. radiata*. Para esto las plantas se transportan al área de parasitación, donde de igual manera que en la producción de *D. citri* se trabaja con

Vizcarra *et al.* (2013) encontraron que *T. radiata* se alimenta de la hemolinfa de ninfas mediante una herida provocada en el tórax, no succiona completamente a la ninfa pero deja diferentes huellas de entomofagia, como son la acumulación de hemolinfa en el sitio donde se provocó la herida, la adhesión entre sus dos alas o el ala posterior con el abdomen, la falta de simetría dorsal, la adhesión a la hoja debido a la solidificación de la hemolinfa derramada y la deshidratación; asimismo se encontraron que este parasitoide prefiere alimentarse de las ninfas de tercer ínstar y presenta menor preferencia por las de primer y quinto ínstar.

cubos de cría dentro de los cuales se colocan nueve plantas de *M. paniculata* infestadas con ninfas de *D. citri*; en esta etapa del proceso se le introducen alrededor de 75 parasitoides (Figura 19). Dentro de cada cubo se colocan tiras de papel absorbente con miel pura para alimentar a los parasitoides (Figura 20). La humedad relativa elevada ( $\geq 90.9\%$ ) influye negativamente sobre el parasitismo de *T. radiata*; por lo que se recomienda manejar el riego y la ventilación para evitar estos valores (González-Cabrera *et al.*, datos sin publicar).



Figura 19.  
Parasitoides dentro  
de tubo vial.

## Corte de brotes

Para realizar el corte de brotes con ninfas parasitadas es necesario un monitoreo constante de las ninfas, a partir del octavo o décimo día que se pusieron en contacto los parasitoides con las ninfas. El corte de brotes se inicia al observar la presencia de meconio (excretas de la pupa de *T. radiata*) (Figura 21), para esta actividad se necesitan tijeras de jardinería y hieleras. Se deben cortar solo los brotes que contengan ninfas parasitadas y evitar dañar a la planta (Figura 22), los brotes son colocados dentro de la hilera para evitar su deshidratación; posteriormente las hieleras con los brotes se transportan a la sala de extracción del parasitoide.



Figura 20.  
Papel absorbente con miel  
para alimentación de  
*T. radiata*.



Figura 21.  
Ninfa con meconio.

## Extracción y recolecta del parasitoide

Para la recolecta del parasitoide se requiere una sala a  $25 \pm 2$  °C y  $60\% \pm 20$  HR, con un fotoperiodo de 12 horas luz. Para este proceso se utilizan cajas de extracción (50 x 50 x 50 cm) negras con un orificio en cada lado (10 cm de diámetro) cubierto con tela negra; de esta manera se favorece la ventilación dentro de la caja y se mantiene la oscuridad en el interior. En el centro de la parte superior de la caja hay un orificio donde se le coloca un frasco colector; entre este orificio y el frasco se coloca una malla para evitar que los adultos de *D. citri* suban al frasco, de esta forma pasan únicamente los parasitoides; en el interior la caja tiene tres niveles. En el anaquel o estructura que soporta las cajas se coloca una fuente de luz blanca, de bajo consumo de energía, esta luz atrae a los parasitoides a los frascos colectores (Figura 23).

Cuando los brotes con ninfas parasitadas son colocados dentro de las cajas de extracción, es conveniente colocar papel periódico en la parte inferior de la caja para la absorción de la humedad producida por los brotes, esto evita un ambiente favorable para el desarrollo de hongos; también se debe evitar que brotes y periódico queden muy compactados y se debe dejar en el centro de los niveles uno y dos un orificio central para permitir el acceso de luz al nivel inferior. Una vez transcurridos 10 días de haber colocado los brotes con ninfas parasitadas dentro de las cajas de extracción, se procede a la



Figura 22.  
Corte de brotes.



Figura 23.  
Cajas de extracción bajo una fuente de luz.



limpieza de éstas, dado que los parasitoides ya terminaron de emerger. Se retiran todos los brotes y el papel periódico de la caja, y posteriormente, se asperja alcohol al 96%, después se debe limpiar y secar con una franela. Para la recolecta de parasitoides se utilizan dos técnicas, recolecta por medio de luz artificial y recolecta con ayuda de luz solar.

**Recolecta del parasitoide por medio de luz artificial:** Diariamente los parasitoides se recolectan de los frascos con ayuda de un aspirador bucal conectado a una bomba de vacío con una presión de 15 cm Hg. El aspirador debe tener ensamblado un tubo vial donde se capturan los parasitoides, dentro del vial se coloca una etiqueta rotulada con la fecha de recolecta y pequeñas gotas de miel para alimentar a los parasitoides el tiempo que se mantengan almacenados. La tapa del tubo vial debe presentar pequeños orificios que permitirán ventilación dentro del vial. Los parasitoides son aspirados y contados uno a uno, se recomienda recolectar 50 parasitoides por tubo vial de 25 mL, 200 parasitoides en frascos de 100 mL y 400 en frascos de 250 mL (Figura 24).

**Recolecta del parasitoide por medio de luz natural:** Para utilizar este método es necesario una sala que cuente una ventana cerrada con un vidrio, así se permitirá la entrada de luz natural y los insectos serán atraídos hacia ella. Esta técnica consiste en abrir las cajas de extracción que contengan ninfas parasitadas para dejar escapar los parasitoides; los insectos serán atraídos hacia la luz de la ventana y se quedarán postrados en el vidrio, para posterior-



Figura 24.  
Colecta del parasitoide de los frascos colectores.



Figura 25.  
Recolecta del parasitoide con luz natural.

mente ser aspirados y contados de igual manera que en la técnica de recolecta por luz artificial (Figura 25).

## Almacenamiento

Los parasitoides pueden ser liberados inmediatamente después de ser recolectados a las áreas donde se requieran o bien ser almacenados en una sala a 19°C (Skelley y Hoy 2004) durante 5 a 10 días como máximo (Figura 26). Durante el tiempo que se mantienen almacenados deben alimentarse cada tercer día, introduciendo al tubo vial pequeños papeles con finas gotas de miel (Figura 27).



Figura 26.  
Parasitoides almacenados.

## Control de calidad

Para el control de calidad de la colonia se debe estimar el porcentaje de parasitismo, porcentaje de emergencia, proporción sexual y porcentaje de individuos defectuosos (Vizcarra-Valdez *et al.* 2012).

### Porcentaje de parasitismo

Para determinar este parámetro se toma del lote de producción diario una muestra al azar de 20 brotes (de 5 a 10 cm aproximadamente) de *M. paniculata* con ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*. Los brotes se observan bajo un microscopio estereoscópico (10-45x), se cuenta y registra el número de ninfas parasitadas y ninfas sanas de cada uno de los brotes, en el caso de las ninfas pa-



Figura 27.  
Papeles con miel para  
alimentación de los  
parasitoides.

rasitadas se buscan ninfas con presencia de cualquiera de los estados de desarrollo del parasitoide (huevo, larva, prepupao pupa) o bien momias con el orificio de emergencia. Con los datos se obtiene el porcentaje de parasitismo con la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de parasitismo} = \frac{(\text{Ninfas parasitadas}) \times 100}{(\text{Total de ninfas})}$$

### Porcentaje de emergencia

Se debe obtener una muestra por semana de material similar al utilizado en el parámetro de porcentaje de parasitismo (20 brotes de 5 a 10 cm aproximadamente de *M. paniculata* con ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*), los brotes se colocan dentro de una caja de extracción (previamente descrita) durante 10 días. Diariamente los parasitoides emergidos se recolectan y contabilizan con la ayuda de un aspirador bucal entomológico. El porcentaje de emergencia se obtiene sometiendo los datos a la fórmula siguiente:

$$\text{Porcentaje de emergencia} = \frac{(\text{Adultos emergidos}) \times 100}{(\text{Ninfas parasitadas})}$$

### Proporción sexual

Para determinar la proporción de sexos se toma una muestra de 100 adultos de *T. radiata*, estos adultos se colocan en una caja Petri de vidrio, de 5.5 cm de diámetro, sobre un gel refrigerante congelado para inmovilizarlos y facilitar su observación bajo un microscopio estereoscópico (10-45X). Para identificar el sexo se observan las características morfológicas de las antenas (Figura 17 y 18). Adicionalmente a esta característica, las hembras

poseen el abdomen más grande al igual que una mancha clara sobre la parte dorsal y ventral del abdomen en comparación con el macho (Waterston 1922). Se cuenta y registra el total de machos y hembras en la muestra y la relación de hembra - macho se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\text{Proporción sexual} = \frac{(\text{Hembras observadas})}{(\text{Machos observados})}$$

### Porcentaje de individuos defectuosos

Para medir este parámetro se utiliza una muestra de 100 individuos adultos. Con un microscopio estereoscópico (10-45x) se busca y cuantifica cualquier defecto o contaminante que pudiera presentarse en la muestra, al igual que la presencia de alguna deformación en los parasitoides. Por ejemplo individuos con alas atrofiadas o malformaciones, coloración en cuerpo y ojos, tamaño menor al promedio. Para determinar el porcentaje de individuos defectuosos los datos se someten a la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de individuos defectuosos} = \frac{(\text{Individuos defectuosos}) \times 100}{(\text{Total de individuos observados})}$$

## Empaque de parasitoides para liberación

Los parasitoides se empaquetan en una hielera para transportarse a campo. Dentro de la hielera, en la parte inferior, se colocan geles congelados envueltos en papel periódico, de esta manera se evita el contacto directo de los geles con los frascos y el aumento de temperatura dentro de la hielera, sobre los geles se coloca más papel periódico y posteriormente se introducen los frascos con los parasitoides, se aseguran los frascos para que no se muevan durante el transporte, se cierra la hielera y se verifica que esté sellada antes de enviarla a su destino (Figura 28 y 29).



Figura 28.  
Hielera con geles congelados  
y papel periódico



Figura 29.  
Parasitoides empacados para  
liberación en campo

### Relación entre el volumen del frasco y la cantidad de parasitoides para almacenar

25 mL	50 Parasitoides
110 mL	200 Parasitoides
250 mL	400 Parasitoides



“Brindar las condiciones adecuadas al parasitoide para que realice su función es parte importante del proceso de producción masiva, por lo que no se debe descuidar esta fase.”

# **Liberación y evaluación**

---

***El propósito de la producción  
y justificación del programa***



# LIBERACIÓN Y EVALUACIÓN

## Generalidades

La liberación del parasitoide *Tamarixia radiata* se realiza en huertos abandonados, orgánicos y áreas urbanas; debe realizarse con base en ciertas consideraciones y con ello tener la certeza de que el material que se emplea cumpla su función; para esto se toman en cuenta tres criterios básicos:

1. Que la liberación no se realice en huertos donde se han efectuado aplicaciones de insecticidas en los dos meses anteriores al día de liberación de parasitoides.
2. Que los árboles de las huertas, o de las áreas urbanas, tengan presencia de brotes jóvenes, lo que asegura regularmente la existencia de ninfas de *D. citri*.
3. Que el sitio presente huevos o ninfas de la plaga;

Hasta el 2015 las liberaciones son realizadas en áreas urbanas y huertas productoras de cítricos abandonadas, o sin la aplicación de insecticidas, en cítricos y limonarias en los estados de Colima, Jalisco, Hidalgo, Nayarit, Michoacán, Baja California Sur, Yucatán, Campeche, Quintana Roo, Tabasco, Oaxaca, Hidalgo, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas, Guerrero y Chiapas. Estas liberaciones benefician directa e indirectamente a decenas de pro-

Moreno-Carrillo *et al.* (2012) demostraron un efecto positivo en áreas urbanas de Tecmán, Armería y Manzanillo, Colima, donde se realizan liberaciones programadas de *T. radiata*, mismo que se refleja en un porcentaje de parasitismo mayor que en áreas donde no se realizan liberaciones.

ductores. Previo a las liberaciones se determina el parasitismo natural de las áreas a tratar y se ha comprobado que estas liberaciones incrementan el nivel de parasitismo en los puntos tratados.

El objetivo principal de las liberaciones de *T. radiata* es apoyar y reforzar la estrategia de manejo del psílido asiático de los cítricos que el SENASICA implementa, a través de la Dirección General de Sanidad Vegetal, ya que es una estrategia que permite atender áreas donde la aplicación de insecticidas se ve limitada como áreas urbanas y huertos sin aplicación de insecticidas. Además, las liberaciones se hacen ante la necesidad de reforzar y apoyar a las poblaciones de parasitoides presentes de manera natural en las áreas urbanas y en los agroecosistemas citrícolas del país. Asimismo se ha detectado la necesidad de liberar parasitoides reproducidos masivamente para recuperar las poblaciones abatidas por la aplicación de insecticidas para el control de esta plaga.

Naranjo-Lázaro et al. (2013) comprobaron que los hongos entomopatógenos *Isaria javanica* (*I. fumosorosea*) y *Metarhizium anisopliae*, más coadyuvantes, no influyen negativamente sobre el parasitoide *T. radiata*, pudiendo interactuar en un programa de control biológico más amplio sobre el psílido asiático de los cítricos.

## Procedimiento de liberación

### Materiales

1. Mínimo 2 personas (una para el manejo del dispositivo GPS y registro; otra para liberación de material en campo); ambos siempre se mantendrán juntos en el recorrido por la huerta o área urbana.
2. Material biológico (parasitoides). Este material se envía por los medios adecuados (paquetería de entrega de un día después) a los sitios donde se planea la liberación. Durante el recorrido, el material se transporta en una hielera con una temperatura de 19°C aproximadamente, como se indicó en la sección de empaque.
3. Dispositivo portátil de geoposicionamiento global (GPS).
4. Formato para el registro de datos de liberación (Anexo 1).
5. Libreta de campo.
6. Lápiz.
7. Baterías o suministro de energía requerido para el dispositivo GPS portátil.
8. Hielera de plástico o unicel.
9. Gel refrigerante.
10. Termómetro.



## Procedimiento:

1. Al recibir la hielera con parasitoides deberán verificarse las condiciones de ésta, así como proporcionar ventilación y mantener una temperatura promedio de 19°C.
2. Es recomendable realizar la liberación en campo al momento de recibir el paquete o un día posterior a la recepción, siempre y cuando se pueda mantener el material biológico a la misma temperatura.
3. Antes de la liberación de los parasitoides, 10 a 20 minutos, se recomienda retirar el gel refrigerante de la hielera para elevar gradualmente a las condiciones de temperatura ambiente.
4. Es importante no dejar el material biológico sin refrigeración, directamente al sol, dentro de un vehículo cerrado o sin la supervisión de personal capacitado.
5. Localizar el predio, huerta o área urbana donde se realizará la liberación de los adultos de *T. radiata*.
6. Es recomendable que el lugar donde se realice la liberación cumpla con las siguientes características: a) presencia de huevos o cualquier instar ninfal del psílido asiático de los cítricos (*D. citri*); b) no haber realizado aplicaciones de insecticidas en por lo menos dos meses antes del momento de la liberación.
7. La dosis de liberación recomendada es 100 parasitoides cada 50 a 100 metros lineales según el grado de infestación, bajo el siguiente criterio, de acuerdo a la densidad de plantas hospederas presentes o si se observan más de 20 ninfas en promedio por brote por árbol deberán liberarse 100 parasitoides cada 50 metros. Al observar 20 o menos ninfas en promedio por brote se liberarán 100 individuos cada 100 metros (Figura 30).
8. En cada punto de liberación, y bajo la sombra de una rama, se destaparán uno o dos frascos viales de 50 parasitoides cada uno, se golpeará suavemente el frasco para ayudar a salir a los parasitoides.

9. Deberán registrarse las coordenadas geográficas marcadas en el GPS en una libreta de campo, así como los datos de ubicación general del lugar de liberación solicitados (Anexo 1).
10. Realizada la liberación y después de registrar los datos en el formato, se debe enviar el documento anexo digitalizado al correo electrónico indicado por el laboratorio oficial reproductor del parasitoide.
11. Para consultar dudas o aclaraciones, contactar al personal técnico del laboratorio reproductor del parasitoide, o al personal del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico en Tecomán, Colima, México. Teléfonos (313) 324 0741 y 45.
12. Después de concluir la liberación de parasitoides, los frascos viales con tapa se deben enviar a la dirección indicada por el laboratorio reproductor del parasitoide o al CNRCB a la siguiente dirección: Km. 1.5 Carretera Tecomán-Estación FF.CC., colonia Tepeyac, C.P. 28110 Tecomán, Colima, México, así como el recibo escaneado del material biológico (Anexo 2).

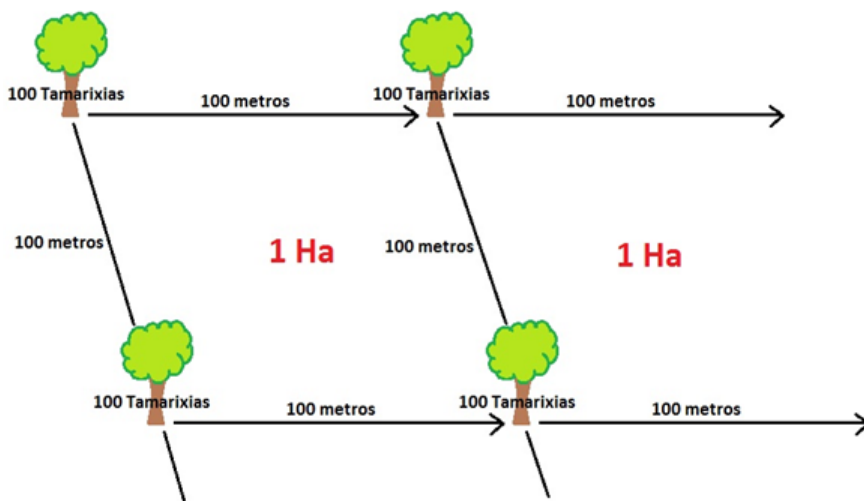


Figura 30. Esquema de liberación de *Tamarixia radiata* recomendado.

## Muestreo para evaluación

En áreas urbanas el muestreo se realiza bajo el siguiente procedimiento:

1. El muestreo debe realizarse a no más de cuatro meses de la última liberación realizada.
2. Muestrear diez plantas hospederas (cítricos o limonarias) por localidad tomando en cuenta una distancia de por lo menos 50 a 100 metros entre un hospedero y otro. De cada planta hospedera, tomar al azar tres brotes con ninfas del tercer a quinto ínstar.
3. Cada brote deberá presentar un mínimo de 10 ninfas con las características mencionadas.
4. Los brotes recolectados deberán tener un tamaño máximo de 10 cm de largo.
5. Los tres brotes recolectados por planta hospedera deberán ser colocados en frascos de plástico con tapa de rosca de 8 cm de altura, con un diámetro de 5.5 cm o 250 mL, dando como resultado 10 frascos por localidad o huerto.
6. La muestra por localidad se integrará por 30 brotes (10 frascos).
7. Recolectada la muestra se deberá geoposicionar la planta hospedera y registrar en formato de campo (Anexo 3).
8. Cada frasco con sus tres brotes se les añadirá alcohol al 70% asegurándose que los brotes queden totalmente cubiertos, se debe asegurar que las tapas queden bien selladas para evitar el derrame de alcohol.
9. Cada frasco deberá ser etiquetado para su identificación, anotando principalmente la zona evaluada, localidad, tratamiento o testigo, número de muestra consecutivo, hospedero, colector y fecha de muestreo.
10. Los frascos con los brotes serán colocados en hieleras selladas evitando la movilidad de los frascos para evitar derrame de alcohol.

11. El anexo con los registros de geoposición se enviará en formato digital al personal indicado por el laboratorio oficial reproductor del parasitoide.
12. Las muestras obtenidas se enviarán al laboratorio oficial indicado, o al Centro Nacional de Referencia de Control Biológico a la siguiente dirección: Km. 1.5 Carr. Tecomán–Estación FF.CC., Colonia Tepeyac, Tecomán, Colima, C.P. 28110, Apartado postal #67, México.

En huertos abandonados u orgánicos la evaluación se hace usando la misma metodología anterior pero se toman al azar 30 brotes por hectárea.

## Obtención del porcentaje de parasitismo

Las ninfas de tercer a quinto ínstar se observan bajo microscopio estereoscópico para determinar la presencia de cualquier estadio del parasitoide, cuando el parasitismo es avanzado se observa la presencia de meconio en la ninfa muerta. Para determinar el nivel de parasitismo se divide el número de ninfas parasitadas entre el total de ninfas muestreadas y se multiplica por 100 (ver sección de control de calidad en la producción del parasitoide de este manual).

Núñez-Camargo *et al.* (2013) comprobaron que con ciertas condiciones las diferentes cepas de hongos entomopatógenos de *I. javanica* (cepas CNRCB-CHE 303, 305 y 307) (antes *I. fumosorosea* Pf15 Pf17, Pf21) y *M. anisopliae* (cepa CNRCB-CHE 224, antes Ma59), candidatos para el control biológico del psílido asiático de los cítricos, no causan infección en los distintos estados inmaduros de *T. radiata*.

En el estudio realizado por Moreno-Carrillo *et al.* (2013) se observó en todos los muestreos un mayor parasitismo en las localidades con liberaciones de *T. radiata*, llegando a registrar hasta 79.6% de parasitismo de ninfas en Colima; 64.2% en Jalisco y 59.6% en Nayarit.



Formato para registro de liberaciones de *Tamarixia radiata* en huertas abandonadas y zonas urbanas

Sitio	Fecha de liberación	Coordenadas	Lat. Norte	Long. Oeste	Estado	Municipio	Ejido o localidad	Cantidad liberada	Acumulado	Cultivo	Productor o dueño

Anexo 1. Hoja de registro de liberación de *Tamarixia radiata* en campo.





Dirección General de Sanidad Vegetal  
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria  
Subdirección de Control Biológico

### Recibo de Material Biológico

Fecha: \_\_\_\_\_

Recibí la cantidad de \_\_\_\_\_  
ejemplares de la especie *Tamarixia radiata* (Waterston), parasitoide del psílido asiático de los cítricos vector del HLB, reproducidos en las instalaciones del Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del CNRCB. Dicho material será utilizado con fines de:

\_\_\_\_\_

En el estado de \_\_\_\_\_ en los municipios de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Nombre y firma de quien recibe

Nombre y firma de quien entrega

\_\_\_\_\_



Dirección General de Sanidad Vegetal  
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria  
Subdirección de Control Biológico

**Formato de registro de muestras para determinar infestación y parasitismo de *Diaphorina citri* Kuwayama**

Fecha de muestreo: \_\_\_\_\_

Estado del país: \_\_\_\_\_

Municipio	Localidad	Latitud	Longitud	Hospedero	Observaciones

Nombre del colector \_\_\_\_\_

Km. 1.5 Carr. Tecomán- Estación FFCC, Col. Tepeyac, Tecomán, Col., 28110  
t. +52 (313) 324 0745, 324 2773, www.senasica.gob.mx

Anexo 3. Formato de registro de muestras.

## LITERATURA CITADA

- Aubert, B. 1984. The Asian and African citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, Triozaerytreae (Del Guericco) (Homoptera: Psyllidae) in the south west of Saudi Arabia. Proposals for an integrated control programme. Report to FAO, 25 p.
- Augier, L., G. Gastaminza, M. Lizondo, M. Argañaraz, & E. Willink. 2006. Presencia de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el Noroeste Argentino (NOA). Rev. Soc. Entomol. Argent. 65 (3-4): 67-68.
- Chiou-Nan, C. 1998. Ecology of the Insect Vectors of Citrus Systemic Diseases and Their Control in Taiwan. FFTC Publication Database. Obtenido en la Red Mundial el 28 de Julio de 2011: [www.agnet.org/library/eb/459a/](http://www.agnet.org/library/eb/459a/).
- Córdoba-Urtiz, G., M. Palomares-Pérez, & H.C Arredondo-Bernal. 2013. Producción de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) estimulando la brotación de *Murraya paniculata* L., pp. 205-210. En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca México.
- EPPO. 2011. Database on Quarantine pest. *Diphorina citri*. Obtenido en la Red Mundial el 20 de Julio de 2011: [http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Diaphorina\\_citri/DIAACI\\_ds.pdf](http://www.eppo.org/QUARANTINE/insects/Diaphorina_citri/DIAACI_ds.pdf).
- González-Cabrera, J., J.A. Sánchez-González, & H.C. Arredondo-Bernal. 2012. Grado de reuso de las plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack (Rutaceae) como factor en la producción de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayana (Hemiptera: Psyllidae), pp. 321-324. En: Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2012, Puebla, Puebla, México.
- González-Cabrera, J., N.I. Medina-García, J.A. Sánchez-González, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Influencia del fotoperiodo en la preoviposición y oviposición de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae), pp. 168-172. En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca México.
- Halbert, S.E., & K.L. Manjunath. 2004. Asian Citrus Psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and Greening Disease of Citrus: A Literature Review

- and Assessment of Risk in Florida. Fla. Entomol. 87(3): 330-353.
- Huang, C.H., M.Y. Tsai, & C.L. Wang. 1984. Transmission of citrus likubin by a psyllid, *Diaphorina citri*. J. Agric. Res. China. 33(1): 15-72.
- Khan M.A., M. Agnihotri, & S.N. Sushil. 2005. Taxonomic studies of eulophid parasitoids (Hymenoptera: Chalcidoidea) of India. Pantnagar Journal of Research 2(1): 169-170.
- Kohno, K., K. Takahashi, T. Nakata, & K. Konishi. 2002. Occurrence of the Asian citrus psylla and its parasitic natural enemies in the Ryukyu Archipelago, Japan. Acta Horticulturae 575(2): 503-508.
- Lama, T.K., C. Regmi, & B. Aubert. 1988. Distribution of citrus greening disease vector (*Diaphorina citri* Kuw.) in Nepal and attempts to establish biological control, pp. 255-257. In: L.W. Timmer, S.M. Garnsey, & L. Navarro (eds.), Proceedings of the 10 Conference of IOCV.
- Lim, W.H., O.M. Shamsudin, & W.W. Ko. 1990. Citrus greening disease in Malaysia: status report, pp. 100-105. In: B. Aubert, S. Tontyaporn, & D. Buangsuwon (Eds.), Proceedings of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation, Chiang Mai, Thailand.
- Qing, T.Y., & B. Aubert. 1990. An illustrated guide to the identification of parasitic wasps associated with *Diaphorina citri* Kuwayama in the Asian-Pacific Region., pp. 228-239. In: B. Aubert, S. Tontyaporn, & D. Buangsuwon (Eds.), Proceedings of the 4th International Asia Pacific Conference on Citrus Rehabilitation, Chiang Mai, Thailand.
- Michaud, J.P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. Biological Control 29: 260-269.
- Moreno-Carrillo, G., J. A. Sánchez-González, & H.C Arredondo-Bernal. 2013. Avances en la evaluación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en áreas urbanas de la región Pacífico Centro de México, pp. 341-346. En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca México.
- Moreno-Carrillo, G., J.A. Sánchez-González, & H.C Arredondo-Bernal. 2012. Efectividad de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae) en áreas urbanas de la zona citrícola en el Estado de Colima, pp. 321-324. En: Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2012, Puebla,

México.

- Myartzeva, S.N., & A. Trijapitzyn. 1978. *Aphidencyrthus diaphorine* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasite reared from *Diaphorina citri* in Vietnam (in Russian, English summary). *Zoologicheskii Zhurnal* 57: 793-794.
- Narajo-Lázaro, J. M., M. A. Mellin-Rosas, V. D. González-Padilla, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Susceptibilidad de adultos de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) a hongos entomopatógenos y coadyuvantes en laboratorio, pp. 586-589. *En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.*
- Nava, D., M. Torres, M. Rodrigues, J. Bento, & J. Parra. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem. Psyllidae) on different hosts and different temperatures. *J. App.Entomol.* 131(9-10): 709-715.
- Nurhadi. J. 1989. Integrated approaches to formulate control measures against greening vector, *Diaphorina citri* Kuw. in Indonesia, pp. 47-49. *In: B. Aubert, C. Ke, & C. Gonzales (Eds.), Proceedings of the 2 FAO-UNDP Regional Workshop on the Asian-Pacific Citrus Greening Disease.*
- Núñez-Camargo, M.C., M.A. Mellín-Rosas, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Efecto de hongos entomopatógenos sobre la emergencia de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) bajo condiciones controladas, pp. 134-138. *En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.*
- Onagbola, E. O., D.R. Boina, S.L. Hermann, & L.L. Stelinski. 2009. Antennalsensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 102:523-531
- Palomares-Pérez, M., E.G. Córdoba-Urtiz, N.I. Medina-García, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Evaluación de bioestimulantes para la brotación de tamaño óptimo de brote de *Murraya paniculata* L. a infestar, pp. 210-216. *En: Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.*



- Palomares-Pérez, M., E.G. Córdoba-Urtiz, N.I. Medina-García, Y. Contreras-Bermúdez, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Ciclo de vida *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Psyllidae) en primavera-verano bajo condiciones de cría masiva de su parasitoide, pp. 264-269. *En:* Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.
- Sandoval-Jiménez, D.E., J.A. Sánchez-González, M. Palomares-Pérez, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Avances sobre el estudio de la dispersión de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en huertas citrícolas, pp. 346-351. *En:* Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.
- Schauff, M.E., J. LaSalle, & L.D. Coote. 1997. Eulophidae, p. 350. *In:* Gibson G.A.P., J.T. Huber, & J.B. Woolley (Eds.), Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). NRC Research Press. Ottawa, Ontario, Canada.
- Skelley, H. L., & A. M. Hoy. 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus Psyllid and its parasitoids in quarantine. *Biological Control* 29: 14-23.
- Tang, Y.Q. 1989. A preliminary survey on the parasite complex of *Diaphorinacitri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae) in Fujian 1988, pp. 10-17. *In:* B. Aubert, K. Chung, & C.I. Gonzales (Eds.), Asian/Pacific Citrus Greening, 1988.
- Vizcarra-Valdez, N. I., J. A. Sánchez-González, J. González-Cabrera, & H.C. Arredondo-Bernal. 2013. Determinación de la preferencia de alimentación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre su huésped, pp.194-199. *En:* Memoria del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2013, Oaxaca de Juárez, Oaxaca, México.
- Vizcarra-Valdez, N. I., J. A. Sánchez-González, A. González-Hernández, & H.C. Arredondo-Bernal. 2012. Parámetros biológicos en el control de calidad en la producción masiva del parasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), pp. 132-137. *En:* Memoria del XXXV Congreso Nacional de Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. Noviembre de 2012, Puebla, Puebla, México.

- Waterston J. 1922. On the chalcid parasites of psyllids (Homoptera). Bulletin of Entomological Research 13(1): 55
- Xu, C., Y. Xia, K. Li, & C. Ke. 1990. Study on latent period of pathogen of citrus huanglungbing in citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuw. Acta Phytopathologica Sinica 20(1): 25-31.

113



Adultos de *Tamarixia radiata* con marcaje temporal para estudios de comportamiento, técnica desarrollada por la Biol. Nora I. Vizcarra V. 2014



[www.sagarpa.gob.mx](http://www.sagarpa.gob.mx)



[www.senasica.gob.mx](http://www.senasica.gob.mx)

"Este programa es público, ajeno a cualquier partido político.

Queda prohibido el uso para fines distintos a los establecidos en el programa".

Quejas • Denuncias

Órgano Interno de Control en el SENASICA

+52(55) 5905 1000, ext: 51648

+52(55) 3871 8300, ext: 20385

Dudas sobre:

- Campañas Fito o Zoonosonitarias
- Movilización de Productos Agroalimentarios y Mascotas

01 800 987 9879