Protocolo de cría y liberación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)

Takumasa Kondo, editor

Mosquera, Colombia 2017

Corpoica
EDITORIAL

Colección Transformación del Agro

Protocolo de cría y liberación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). / Editor Takumasa Kondo -- Mosquera (Colombia) : Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), 2017.

128 páginas
Incluye referencias bibliográficas, datos numéricos e ilustraciones
ISBN obra impresa: 978-958-740-240-7 ISBN (e): 978-958-740-241-4

1. Cítricos 2. Enverdecimiento 3. Plagas de plantas 4. Enfermedades de las plantas 5. Medidas fitosanitarias 6. Valle del Cauca (Colombia) I. Kondo, Takumasa (Ed.)

Palabras clave normalizadas según Tesauro Multilingüe de Agricultura Agrovoc
Catalogación en la publicación – Biblioteca Agropecuaria de Colombia

Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Corpoica
Centro de Investigación Palmira
Diagonal a la intersección de la carrera 36A con calle 23, Palmira, Valle del Cauca. Código postal: 763533, Colombia

Esta publicación es resultado del proyecto de Corpoica: "Evaluación de entomopatógenos y productos químicos para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y estudios biológicos de *D. citri* y su enemigo natural principal *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), del convenio TV15 de la Agenda Quinquenal.

Primera edición: 300 ejemplares
Impreso en Bogotá, Colombia, agosto de 2017
Printed in Bogota, Colombia

Preparación editorial
Editorial Corpoica
editorial.corpoica@corpoica.org.co
Editora: Liliana Gaona García
Corrección de estilo: Olga Lucía Riaño
Foto portada: Cesar Armando Velasco Mariño

Diseño y diagramación: Oficina Asesora de Comunicaciones, Identidad y Relaciones Corporativas, Corpoica
Impreso por: Fundación Cultural de Artes Gráficas (Javegraf)

Citación sugerida: Kondo T, editor. 2016. Protocolo de cría y liberación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). Mosquera, Colombia: [Corpoica] Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.

Cláusula de responsabilidad: Corpoica no es responsable de las opiniones e información recogidas en el presente texto. Los autores asumen de manera exclusiva y plena toda responsabilidad sobre su contenido, ya sea este propio o de terceros, declarando en este último supuesto que cuentan con la debida autorización de terceros para su publicación; igualmente, declaran que no existe conflicto de interés alguno en relación con los resultados de la investigación propiedad de tales terceros. En consecuencia, los autores serán responsables civil, administrativa o penalmente frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros relativa a los derechos de autor u otros derechos que se hubieran vulnerado como resultado de su contribución.

Línea de atención al cliente: 018000121515
atencionalcliente@corpoica.org.co
www.corpoica.org.co



https://co.creativecommons.org/?page_id=13

Contenido

Prólogo 17

Introducción 19

Capítulo I

Enemigos naturales de *Diaphorina citri* 23

Enemigos naturales de *Diaphorina citri* en el mundo 24

Enemigos naturales (insectos) de *Diaphorina citri* en el Valle del Cauca, Colombia 29

Depredadores 30

Parasitoides 31

Relación mutualista y depredación de hormigas 31

Entomopatógenos 32

Capítulo II

***Tamarixia radiata* (Waterston)** 35

Taxonomía 36

Distribución 36

Identificación 37

Morfología de los adultos 37

Control biológico 38

Capítulo III

Biología de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) 41

Desarrollo del huevo, cinco estados ninfales y el estado adulto de *Tamarixia radiata* 42

Huevos 42

Larvas 42
Pupas 43
Desarrollo y comportamiento 44
Datos biológicos 44

Capítulo IV

Siembra y mantenimiento de *Murraya paniculata* (L.) 47
Clasificación taxonómica de *Murraya paniculata* (L.) 48
Origen, distribución y características 48
Uso como sustrato en crías de *Diaphorina citri* 49
Frutos 50
Colecta de frutos 50
Traslado de frutos 51
Despulpado de frutos y obtención de semillas 51
Semillas 52
Secado de semilla 52
Almacenamiento de semillas 53
Semillero 54
Transplante 55
Manejo de plantas de mirto, *Murraya paniculata*, en vivero 57
Riego 57
Fertilización 57
Manejo fitosanitario en la producción de plantas de *Murraya paniculata* 58

Poda de formación 60

Materiales e insumos básicos para la producción de plantas de *M. paniculata* 60

Capítulo V

La planta del curry, *Murraya koenigii* (L.) Spreng., potencial hospedero alterno para la cría masiva de *Diaphorina citri* 63

Clasificación taxonómica 64

Murraya koenigii, hospedero alterno para la producción masiva de *Tamarixia radiata* 64

Capítulo VI

***Diaphorina citri* Kuwayama, hospedante de *Tamarixia radiata* (Waterston)** 67

Clasificación taxonómica *Diaphorina citri* Kuwayama 68

Distribución geográfica 68

Biología y morfología 69

Clave para diferenciar los estadios ninfales y el adulto de *Diaphorina citri* 69

Características morfológicas de los estados de desarrollo de *Diaphorina citri* 71

Capacidad de vuelo de *Diaphorina citri* 74

Desarrollo desde huevo hasta adulto de *Diaphorina citri* 74

Parámetros poblacionales 76

Estados ninfales preferidos por *Tamarixia radiata* 78

Capítulo VII

Procedimientos para la cría masiva de *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata* 81

Infraestructura 83

Instalaciones 84

Insumos para la elaboración de jaulas de madera con malla antiáfidos 84

Sustrato para la cría de *Diaphorina citri* (plantas de mirto) 85

Elementos necesarios para la colecta de *Diaphorina citri* 85

Colecta de adultos de *Diaphorina citri* y establecimiento de un pie de cría 86

Cría de *Diaphorina citri* 86

Cría del parasitoide *Tamarixia radiata* 87

Corte de brotes con ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas 87

Extracción y colecta del parasitoide *Tamarixia radiata* 88

Almacenamiento de parasitoides 89

Empaque de parasitoides para liberación 90

Liberación, evaluación en campo y control de calidad del parasitoide *Tamarixia radiata* 90

Materiales, insumos y personal necesarios 91

Muestreo para evaluación 93

Control de calidad 93

Porcentaje de parasitismo 94

Porcentaje de emergencia 94

Proporción sexual 94

Porcentaje de individuos deformes 95

Capítulo VIII

Estimación de costos de producción de *Tamarixia radiata* 97

Presupuesto de inversiones 99

Presupuesto de costos de producción 101

Costo unitario promedio de *Tamarixia radiata* 105

Resumen global de los costos de producción masiva de *Tamarixia radiata* en Corpoica, CI Palmira 106

Observaciones sobre los costos de producción 107

Conclusiones 109

Los autores 111

Referencias 117



Lista de figuras

Figura 1	Las cuatro fases principales del proceso de producción masiva de *Tamarixia radiata*	21
Figura 2	Enemigos naturales asociados con *Diaphorina citri* en Colombia	30
Figura 3	*Tamarixia radiata* (Waterston)	36
Figura 4	Huevo y larva del primer instar de *Tamarixia radiata* en su hospedero *Diaphorina citri*	43
Figura 5	Desarrollo de *Tamarixia radiata* debajo de una ninfa de *Diaphotina citri* parasitada	43
Figura 6	Ciclo de vida de *Tamarixia radiata* sobre *Diaphorina citri* en condiciones del Valle del Cauca, Colombia	45
Figura 7	El mirto, *Murraya paniculata* (L.) Jack	49
Figura 8	Frutos de mirto, *Murraya paniculata* (L.) Jack	50
Figura 9	Despulpe de frutos maduros	51
Figura 10	Elaboración de un semillero de mirto	54
Figura 11	Trasplante de mirto	56
Figura 12	Morfología de los estados inmaduros y adulto de *Diaphorina citri*	70
Figura 13	Tiempo de duración de los diferentes estados de desarrollo de *Diaphorina citri* sobre mirto *Murraya paniculata* en condiciones de casa de malla	73
Figura 14	Curva de supervivencia (l_x) y fecundidad (m_x) de hembras de *Diaphorina citri*, en condiciones de casa de vidrio	76
Figura 15	Diagrama de flujo del proceso de cría masiva de *Tamarixia radiata*	82

Figura 16 Instalación de producción masiva de *T. radiata* en el Centro de Investigación Palmira 84

Figura 17 Elementos de colecta 85

Figura 18 Proceso de parasitación 87

Figura 19 Proceso de extracción y almacenamiento de *Tamarixia radiata* 88

Figura 20 Proceso de envase para envío de *Tamarixia radiata* 89

Figura 21 Envío y liberación en campo de *Tamarixia radiata* 90





Lista de tablas

Tabla 1	Listado de enemigos naturales (arácnidos e insectos) reportados en el mundo	24
Tabla 2	Características de los frutos y semillas de *Murraya paniculata*, colectados en el Valle del Cauca, Colombia	53
Tabla 3	Productos recomendados para el control de plagas en el cultivo de *Murraya paniculata* para la producción del parasitoide *Tamarixia radiata*	59
Tabla 4	Materiales e insumos básicos para la producción de plantas de *Murraya paniculata*	60
Tabla 5	Duración de los estadios de desarrollo de *Diaphorina citri*	74
Tabla 6	Parámetros poblacionales de hembras de *Diaphorina citri* (n=12) criadas en condiciones de casa de vidrio	77
Tabla 7	Presupuesto de inversiones en pesos colombianos, año 2015	99
Tabla 8	Presupuesto de costos de producción en pesos de 2015	102
Tabla 9	Actividades requeridas para siembra y manejo agronómico de *Murraya paniculata*	105
Tabla 10	Costo unitario, promedio, de producción de *Tamarixia radiata* en pesos colombianos en el año 2015	105
Tabla 11	Inversiones y costos de producción de *Tamarixia radiata*, en pesos colombianos en el año 2015	106



Prólogo

Es muy satisfactorio ver cómo los resultados de investigación se transforman en un protocolo de cría masiva de *Tamarixia radiata* para las condiciones de Colombia. Para la realización del presente documento se tomó como modelo la experiencia de México, la cual se desarrolló a partir de los resultados de seis años de investigación, obtenidos por el personal del Laboratorio de Generación de Tecnología y Reproducción Masiva de *T. radiata* del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, perteneciente a la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica), con sede en la ciudad de Tecomán, Estado de Colima, México.

En el año 2009, cuando se detectó el HLB (*huánglóngbìng* o enverdecimiento de los cítricos) en México, la DGSV destinó USD$4,56 millones para actividades de detección del HLB, las cuales consistieron en la revisión de las periferias de huertos de naranja, mandarina, toronja, lima, limón persa y limón mexicano; así mismo, se analizaron muestras del insecto vector y de material vegetal, y se organizaron eventos de capacitación dirigidos a productores, técnicos y público en general, para dar a conocer la importancia del descubrimiento oportuno de la enfermedad. Por otra parte, con recursos extraordinarios del Senasica, por un monto de USD$2,32 millones, se realizó la delimitación y el control de los focos de la enfermedad en los sitios detectados positivos durante ese año (Trujillo-Arriaga 2010).

Este monto equivale a unos 45.000 millones de pesos colombianos; es decir, más del doble del presupuesto de toda la agenda de investigación de Corpoica de 2015 que fue de $19.000 millones. Por otra

parte, en Colombia se ha invertido muy poco en el control del psílido asiático de los cítricos, en comparación con México, por mencionar solo ese caso.

Debido a la reciente llegada del HLB a Colombia, calificada en el mundo como la más devastadora enfermedad de los cítricos, correspondió a Corpoica la tarea de elaborar un protocolo de cría masiva de *Tamarixia radiata* para el control biológico del problema, adaptada a las condiciones del país. Dadas las circunstancias, se contó con menos de un tercio del tiempo que se requiere para desarrollar una guía de producción masiva de un parasitoide, que debe pasar por todos los procesos de producción y etapas de experimentación. El estudio comenzó en 2013 y contempló la adecuación de infraestructura, siembra de semillas para la obtención de plantas de mirto, hospedero alternativo usado para la cría del psílido asiático de los cítricos, adecuación de un cuarto para la extracción de los adultos de *T. radiata* y jaulas de cría hechas a mano, todo muy de forma artesanal. En consecuencia, el protocolo que hoy presentamos es un trabajo que debe ir mejorando con base en la continua investigación.

Takumasa Kondo, editor

Introducción

Takumasa Kondo

La industria de los cítricos en Colombia tiene un papel importante en el sector de la economía agrícola del país y es una valiosa fuente de empleo, con 62.409 hectáreas plantadas y un rendimiento promedio de 10,9 t/ha (DANE 2010). Al igual que otras actividades agrícolas, la industria en cuestión se ve afectada por la proliferación de plagas que limitan su rendimiento y uno de los problemas más importantes al respecto es la enfermedad conocida como enverdecimiento de los cítricos o *huánglóngbìng* (HLB) (Halbert y Manjunath 2004).

El HLB es probablemente la enfermedad más grave de los cítricos, todavía más que el virus de la tristeza, y representa una amenaza para las regiones aún libres de ella (Bové 2006). En el Nuevo Mundo, la enfermedad la causan las bacterias *Candidatus* Liberibacter asiaticus y *Candidatus* Liberibacter americanus, que provocan la producción excesiva de almidón en las plantas y ocasionan el bloqueo del floema y así la muerte regresiva de la planta (Laflèche y Bové 1970). Recientemente, una nueva especie *Candidatus* Liberibacter caribbeanus fue detectada en Colombia (Keremane et al. 2015), sin embargo, se sabe muy poco sobre su nivel de patogenicidad. *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) es el principal vector de la bacteria que causa el HLB (Mead y Fasulo s. f.). Este insecto tiene una distribución amplia y una extensa lista de plantas hospedantes en unos 25 géneros de la familia Rutaceae (Halbert y Manjunath 2004).

Hasta finales de 2015, el *huánglóngbìng* no había sido diagnosticado en Colombia (Ángel et al. 2014), pero la presencia del insecto vector, *D. citri*, había sido informada desde 2007 (ICA 2010). Sin embargo, el 10 de diciembre 2015, el ICA declaró una emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de adultos de *D. citri* portadores de la bacteria *Ca*. L. asiaticus en dos municipios del departamento de La Guajira (Colombia 2015).

Entre los diferentes enemigos naturales de *D. citri* se destaca el ectoparasitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae). En consecuencia, este himenóptero ha sido ampliamente estudiado y descrito en numerosos países como un efectivo agente de control biológico (ACB) de *D. citri* (Postali-Parra et al. 2016). En Colombia, Ebratt-Ravelo et al. (2011a) y Kondo et al. (2012) lo reportaron asociado al vector. En este manual se describen los pasos esenciales del proceso de cría masiva de *T. radiata* adaptados a las condiciones del Valle del Cauca, Colombia; se tomó como base el modelo de producción del parasitoide que se utiliza en México (Sánchez-González et al. 2015).

Un programa de control biológico mediante el uso de *T. radiata* es una estrategia de manejo efectiva, adaptable a condiciones y necesidades específicas, como la de atender áreas donde no se pueda ejercer eficientemente algún otro método de control de plagas agrícolas como zonas urbanas y huertos abandonados (Sánchez-González et al. 2015). Por otra parte, el establecimiento de un sistema o protocolo de cría de *T. radiata* adaptado a las condiciones de Colombia requirió la realización de estudios biológicos de *D. citri* y *T. radiata*.

El objetivo principal de este trabajo es describir los conceptos básicos del proceso de producción masiva de *T. radiata*, dentro de los que se incluyen actividades como la obtención, producción y manejo de las plantas de *Murraya paniculata* (L.) Jack (sustrato) y la cría masiva de *D. citri* (hospedante), desde el establecimiento y mantenimiento de un pie de cría; la cría masiva del parasitoide *T. radiata*, los métodos de liberación y el control de calidad (figura 1).

El documento contiene, además, un listado actualizado de los enemigos naturales de *D. citri* informados en Colombia y en el mundo, producto de las investigaciones efectuadas en el departamento del Valle del Cauca por Corpoica, Centro de Investigación Palmira, y una compilación de la literatura científica. También incluye un

análisis detallado de costos de producción, información que servirá como base para los productores de insumos biológicos que estén interesados en la producción masiva de este ACB.

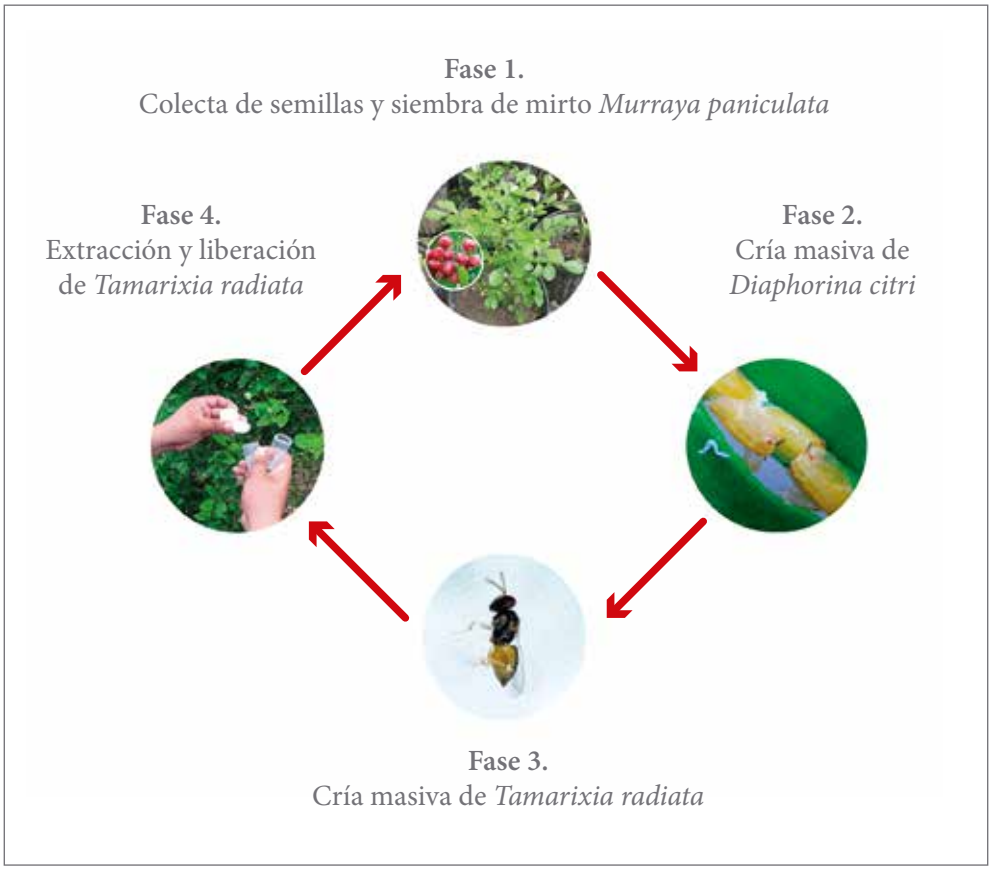


Figura 1. Las cuatro fases principales del proceso de producción masiva de *Tamarixia radiata*.
Fuente: Elaboración propia



Capítulo I



Enemigos naturales de *Diaphorina citri*

Takumasa Kondo
Guillermo González F.
Yoan Camilo Guzmán Sarmiento

Como parte de las medidas de prevención contra el HLB, se realizó la colecta e identificación de enemigos naturales de *D. citri* en el departamento del Valle del Cauca, Colombia (Kondo et al. 2015b). Las colectas de enemigos naturales se llevaron a cabo en huertos de *Citrus* spp. y cercos vivos de *M. paniculata* y swinglea *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr., ubicados en zonas rurales y jardines de casas, así como en árboles de zonas urbanas. Así mismo, se compiló un listado de enemigos naturales con base en la literatura científica.

Enemigos naturales de *Diaphorina citri* en el mundo

La lista de enemigos naturales de *D. citri* se va incrementando día a día, según aparecen nuevos estudios. Recientemente, Khan et al. (2016) reportaron la mariquita *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) como un potencial depredador de *D. citri* que está disponible en el mercado norteamericano. En Colombia, hay dos parasitoides que lo atacan: *T. radiata* (Ebratt-Ravelo et al. 2011a; Kondo et al. 2012) y *Diaphorencyrtus* sp. (Arias-Ortega et al. 2016). En suma, de acuerdo con lo informado en la literatura (Hernández-Fuentes et al. 2014; Kondo et al. 2015b; Sánchez-González et al. 2015), el número total de los artrópodos enemigos naturales de *D. citri* en el mundo es de 101 especies distribuidas en nueve órdenes y 26 familias (tabla 1).

Tabla 1. Listado de enemigos naturales (arácnidos e insectos) reportados en el mundo

Orden	Familia	Especie	Distribución
Acari	Anystidae	*Anystis baccarum* (L.)	China
	Phytoseiidae	*Amblyseius swirskii* Athias-Henriot	EE. UU.
	Trombiculidae	Especie no determinada	México
Araneae	Anyphaenidae	*Hibana velox* (Becker)	EE. UU.
	Eutichuridae	*Cheiracanthium inclusum* (Hentz)	EE. UU.
		Cheiracanthium sp.	Irán
	Gnaphosidae	*Zelotes* sp.	Irán
	Oxyopidae	*Oxyope* sp.	EE. UU.
	Plectreuridae	Especie no determinada	México
	Salticidae	*Hentzia palmarum* (Hentz)	EE. UU.
		Marpissa tigrina Tikader	India
		Nycerella sp.	México
		Thiodina sp.	México
	Theridiidae	Especie no determinada	México
	Thomisidae	Especie no identificada	México
Coleoptera	Carabidae	*Egaploa crenulata* (Dejean)	Arabia Saudita
	Coccinellidae	*Adalia bipunctata* L.	EE. UU.
		Arawana cubensis (Dimmock)	Cuba

(Continúa)

(Continuación tabla 1)

Orden	Familia	Especie	Distribución
Coleoptera	Coccinellidae	*Arawana* sp.	México
		Axion sp.	México
		Azya orbigera Mulsant	Colombia, México
		Azya sp.	México
		Brachiacantha decora Casey	México
		Brachiacantha dentipes (Fabricius)	EE. UU.
		Brachiacantha testudo (Casey)	México
		Brachiacantha sp.	México
		Brumoides suturalis (Fabricius)	India
		Cheilomenes sexmaculata (Fabricius)	China, Colombia, India, Irán, Taiwán
		Chilocorus cacti (L.)	Cuba, México, Puerto Rico
		Chilocorus cf. *cacti* (L.)	Colombia
		Chilocorus nigrita (Fabricius)	India
		Chilocorus stigma (Say)	EE. UU., México
		Chilocorus sp.	México
		Cladis nitidula (Fabricius)	Puerto Rico
		Coccinella repanda Thunberg	India
		Coccinella septempunctata (L.)	India, Irán
		Coelophora inaequalis (Fabricius)	EE. UU., Puerto Rico,
		Coleomegilla innonata Mulsant	Puerto Rico
		Coleomeguilla maculata (De Geer)	EE. UU., México
		Coleomeguilla sp.	México
		Cryptolaemus montrouzieri Mulsant	Puerto Rico

(Continúa)

(Continuación tabla 1)

Orden	Familia	Especie	Distribución
Coleoptera	Coccinellidae	*Curinus coeruleus* (Mulsant)	EE. UU., México
		Curinus colombianus Chapin	Colombia
		Cycloneda devestita (Mulsant)	Venezuela
		Cycloneda sanguinea (L.)	Colombia, Cuba, EE. UU., México
		Cycloneda sanguinea limbifer (Casey).	Puerto Rico
		Cycloneda spp.	México
		Delphastus sp.	México
		Exochomus childreni Mulsant	EE. UU.
		Exochomus nigripennis (Erichson)	Irán
		Exochomus sp.	México
		Harmonia axyridis (Pallas)	Colombia, EE. UU., México
		Harmonia sp.	México
		Hippodamia convergens (Guérin-Méneville)	Colombia, México, Puerto Rico
		Hippodamia sp.	México
		Nephus sp.	México
		Olla v-nigrum (Mulsant)	Colombia, EE. UU., México
		Pentilia sp.	México
		Rodolia cardinalis (Mulsant)	EE. UU.
		Scymnus distinctus Casey	Cuba, México
		Scymmus levaillantii (Mulsant)	Irán
		Scymnus loewii Mulsant	México
		Scymnus rubicundus Erichson	Colombia
		Scymnus spp.	Brasil, México, Puerto Rico

(Continúa)

(Continuación tabla 1)

Orden	Familia	Especie	Distribución
Coleoptera	Coccinellidae	*Serangium* sp.	Taiwán
		Zagloba sp.	México
	Histeridae	*Saprinus chalcites* (Illiger)	Arabia Saudita
Diptera	Syrphidae	*Allobaccha sapphirina* (Wiedemann)	Irán
		Allograpta obliqua (Say)	EE. UU.
		Allograpta sp. (probablemente *A. obliqua* Say)	EE. UU.
		Allograpta spp.	Nepal, Isla Reunión
		Allograpta (*Fazia*) CR-2 aff. *hians*	Colombia
		Leucopodella sp.	Colombia
		Ocyptamus sp.	Cuba
		Ocyptamus fuscipennis (Say)	EE. UU.
		Pseudodorus clavatus (Fabricius)	EE. UU.
Hemiptera	Anthocoridae	*Anthocorus* sp.	EE. UU.
		Orius sp.	EE. UU.
	Geocoridae	*Geocoris* sp.	Taiwán
	Reduviidae	*Zelus longipes* (L.)	EE. UU., México
		Zelus cf. *nugax* Stål	Colombia
		Zelus sp.	EE. UU.
Hymenoptera	Encyrtidae	*Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam and Agarwal)	Argentina, China, EE. UU., India, Filipinas, Isla Reunión, Taiwán, Vietnam
		Diaphorencyrtus sp.	Colombia

(Continúa)

(Continuación tabla 1)

Orden	Familia	Especie	Distribución
Hymenoptera	Eulophidae	*Tamarixia radiata* (Waterston)	Argentina, Colombia, China, Cuba, EE. UU., Guadalupe, Irán, México, Taiwán
	Formicidae	*Dorymyrmex bureni* (Trager)	EE. UU.
		Pseudomyrmex gracilis (Fabricius)	EE. UU.
	Vespidae	*Brachygastra mellifica* Say	México
		Polybia sp.	Colombia
Mantodea	Familia no determinada	Especie no determinada	China
Neuroptera	Chrysopidae	*Ceraeochrysa claveri* (Navás)	México
		Ceraeochrysa cf. *claveri* (Navás)	Colombia
		Ceraeochrysa cubana (Hagen)	México
		Ceraeochrysa everes (Banks)	México
		Ceraeochrysa sp. nr. *cincta* (Schneider)	México
		Ceraeochrysa valida (Banks)	México
		Ceraeochrysa spp.	Colombia, EE. UU., México
		Chrysopa pallens (Rambur) (como *C. septempunctata*)	China
		Chrysopa spp.	Cuba, EE. UU., México
		Chrysoperla carnea (Stephens)	Irán
		Chrysoperla rufilabris (Burmeister)	EE. UU., México
		Chrysoperla spp.	EE. UU., México
		Mallada boninensis (Okamoto)	China, Taiwán
	Hemerobiidae	*Micromus posticus* (Walker)	EE. UU.
Odonata	Gomphidae	*Erpetogomphus sabaleticus* Williamson	Colombia

Fuente: Hernández-Fuentes et al. (2014); Kondo et al. (2015b); Sánchez-González et al. (2008)

Enemigos naturales (insectos) de *Diaphorina citri* en el Valle del Cauca, Colombia

El control de *D. citri* como vector de HLB es un factor crítico en la prevención, contención y manejo de la enfermedad. En los últimos años, se han detectado poblaciones en huertos de cítricos ubicados en áreas rurales y jardines de traspatio en zonas urbanas. A pesar de la importancia que tiene este psílido, pocos estudios sobre sus enemigos naturales se han llevado a cabo en Colombia. La mayoría de los trabajos sobre enemigos naturales de *D. citri* en Colombia se centran en la presencia del ectoparasitoide *T. radiata*, el cual se considera como un parasitoide potencialmente efectivo en varias regiones del país (Ebratt-Ravelo et al. 2011a; Kondo et al. 2012). Más reciente, Kondo et al. (2015a) reportaron la libélula *Erpetogomphus sabaleticus* Williamson (Odonata: Anisoptera: Gomphidae) como depredador de adultos de *D. citri*.

Se identificaron un total de 16 especies de enemigos naturales de *D. citri*, distribuidas en siete familias de seis órdenes de insectos entomófagos (Kondo et al. 2015b); dentro de ellas nueve coccinélidos (mariquitas): *Azya orbigera* Mulsant (figura 2a), *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius) (figura 2b), *Chilocorus* cf. *cacti* (L.) (figura 2c), *Curinus colombianus* Chapin (figura 2d), *Cycloneda sanguinea* (L.) (figura 2e), *Harmonia axyridis* (Pallas) (figura 2f), *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) (figura 2g), *Olla v-nigrum* (Mulsant) (figura 2h), *Scymnus rubicundus* Erichson (figura 2i) (Coleoptera: Coccinellidae); dos especies de sírfidos: *Allograpta* (*Fazia*) aff. *hians* (Enderlein) (figura 2j), *Leucopodella* sp. (figura 2k) (Diptera: Syrphidae); la chinche asesina *Zelus* cf. *nugax* Stål (figura 2l) (Hemiptera: Reduviidae); la avispa *Polybia* sp. (figura 2m) (Hymenoptera: Vespidae); el ectoparasitoide *T. radiata* (figura 2n) (Hymenoptera: Eulophidae); dos especies de crisópidos: *Ceraeochrysa* sp. (figura 2o) y *Ceraeochrysa* cf. *claveri* (Navás) (no ilustrada) (Neuroptera: Chrysopidae), y la libélula *E. sabaleticus* Williamson (Odonata: Gomphidae) (Kondo et al. 2015b).

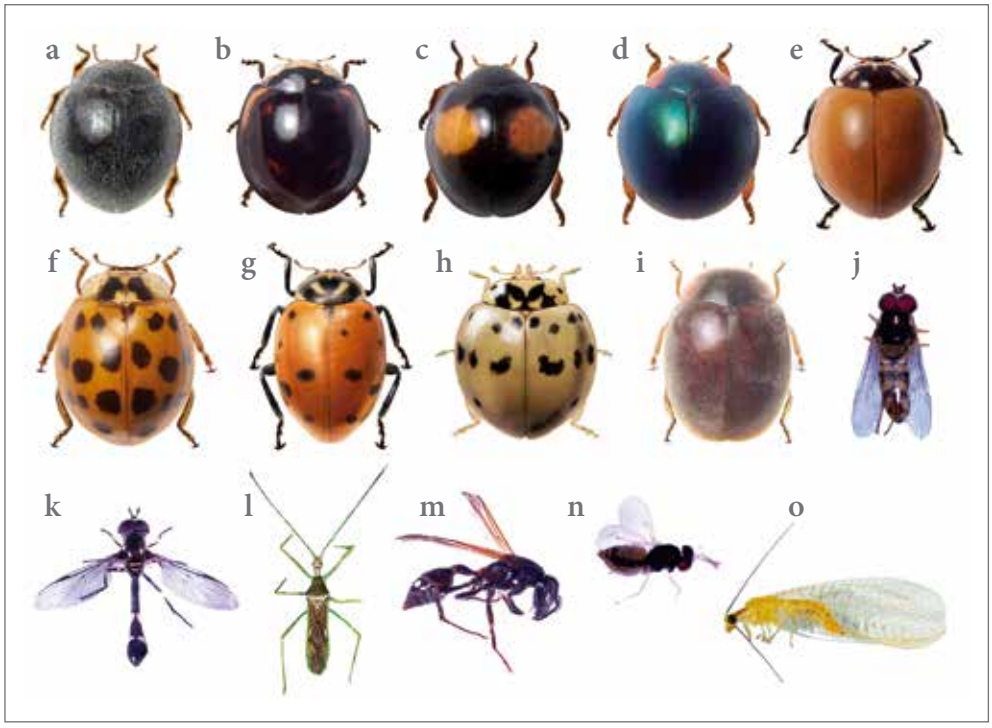


Figura 2. Enemigos naturales asociados con *Diaphorina citri* en Colombia. a. *Azya orbigera* Mulsant; b. *Cheilomenes sexmaculata* (Fabricius); c. *Chilocorus* cf. *cacti* (L.); d. *Curinus colombianus* Chapin; e. *Cycloneda sanguinea* (L.); f. *Harmonia axyridis* (Pallas); g. *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville); h. *Olla v-nigrum* (Mulsant); i. *Scymnus rubicundus* Erichson (Coleoptera: Coccinellidae); j. *Allograpta* (*Fazia*) aff. *hians* (Enderlein); k. *Leucopodella* sp. (Diptera: Syrphidae); l. *Zelus* cf. *nugax* Stål (Hemiptera: Reduviidae); m. *Polybia* sp. (Hymenoptera: Vespidae); n. *T. radiata* (Hymenoptera: Eulophidae); o. *Ceraeochrysa* sp.
Fuente: Kondo et al. (2015b)

Depredadores

En el mundo, la mayor parte de los enemigos naturales de *D. citri* registrados son los coccinélidos o mariquitas (Coleoptera: Coccinellidae) con 39 especies (38,6 %), seguidos de crisopas (Neuroptera: Chrysopidae) con 13 especies (12,9 %) y de los sírfidos con 8 especies (7,9 %). En México se han registrado la *Psyllobora renifer* Casey y la *Psyllobora* sp. como enemigos naturales de *D. citri* (Lomellí et al. 2010; Sánchez-González et al. 2015), sin embargo, estos registros son dudosos ya que los adultos y larvas de las especies del género *Psyllobora* generalmente se alimentan de hongos, en especial de aquellos que forman una cubierta blanquecina en las hojas de árboles y arbustos (González 2006). En Mexico, se ha reportado la especie

Scymnus (*Pullus*) *bicolo*r (Germain) (López et al. 2010; Sánchez-González et al. 2015), sin embargo, esta es una especie endémica de Chile (González 2008), por lo tanto, no se incluyó en el presente listado.

Tambien se encontraron varias especies de chinches asesinas del género *Zelus* (Hemiptera: Reduviidae) alimentándose de adultos de *D. citri*, lo que sugiere que estos hemípteros depredadores se podrían desempeñar como importantes enemigos naturales de *D. citri* (Kondo et al. 2015b). Poco se sabe sobre el grado en que estos chinches reducen las infestaciones de *D. citri*, pero algunos de ellos se consideran importantes agentes de control biológico (Hall et al. 2012). Debido al limitado alcance de este estudio, se espera que un número mayor de depredadores sean identificados en el futuro en Colombia y en el mundo.

Parasitoides

Una característica general de los artrópodos informados como enemigos naturales de *D. citri* es que todas las especies registradas son depredadores generalistas, a excepción de los parasitoides *T. radiata* y *Diaphorencyrtus aligarhensis* Shafee, Alam y Agarwal 1975 (Hymenoptera: Encyrtidae) (Kondo et al. 2015a). Los detalles sobre *T. radiata* se tratan en extenso en el próximo capítulo.

Hussain y Nath (1927) dieron a conocer nueve especies de parasitoides que atacan ninfas de *D. citri* en la provincia de Punjab, Pakistán. Sin embargo, Hoddle et al. (2014) confirmaron que la mayoría de esas especies informadas son hiperparasitoides o parasitoides de otras especies de insectos; indicaron que solo existen dos especies de parasitoides primarios de *D. citri* en la provincia de Punjab: *T. radiata* y *D. aligarhensis*. En Colombia están reportados los parasitoides *T. radiata* y *Diaphorencyrtus* sp. (Arias-Ortega et al. 2016).

Relación mutualista y depredación de hormigas

Muchas especies de hormigas han sido catalogadas como insectos depredadores de *D. citri* (Michaud 2004), aunque no se han realizado observaciones directas de depredación. Según Way (1963), las hormigas asociadas a Hemiptera se pueden alimentar de sus trofobiontes cuando las fuentes de proteínas y lípidos son escasas.

En un estudio realizado en Homestead, Florida (EE. UU.), Navarrete et al. (2013) señalaron que cuando se excluyen de los cultivos las hormigas *Pheidole megacephala* Fabricius, *Brachymyrmex patagonicus* Mayr y *Solenopsis invicta* Buren, se incrementan las tasas de parasitismo de *T. radiata*. En ese estudio, no se observó ningún comportamiento agresivo de las hormigas contra las ninfas de *D. citri*, y el número de ninfas del psílido no mostró diferencia estadística entre aquellas que fueron atendidas por hormigas y las que no, lo que indica que las hormigas no consumen los psílidos que atienden.

Por otra parte, en el invernadero de Corpoica, CI Palmira, donde se mantiene un pie de cría de *D. citri* para la producción de *T. radiata*, la pequeña hormiga de fuego *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hymenoptera: Formicidae) se observó depredando las ninfas de *D. citri* y causó pérdidas graves al pie de cría (Kondo et al. 2016).

Entomopatógenos

Los estudios realizados por Kondo et al. (2015a; 2015b) se centraron solamente en los artrópodos enemigos naturales de *D. citri*, sin embargo, ocasionalmente encontraron ninfas y adultos de *D. citri* infectados por hongos entomopatógenos que pueden ejercer cierta regulación poblacional en condiciones naturales.

En la literatura se han notificado varias especies de hongos entomopatógenos que infectan a *D. citri* y que pueden ser útiles como bioplaguicidas (Mellín-Rosas et al. 2016). De acuerdo con Kondo et al. (2015b), dentro de las especies más citadas se pueden incluir: *Isaria fumosorosea* Wize (= *Paecilomyces fumosoroseus*), *Hirsutella citriformis* Speare, *Lecanicillium* (= *Verticillium*) *lecanii* Zimm., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Cladosporium* sp. nr. *oxysporum* Berk. & MA Curtis, *Acrostalagmus aphidum* Oudem, *Paecilomyces javanicus* (Friederichs & Bally) AHS Brown & G Smith, y *Capnodium citri* Berk. & Desm. (Hall et al. 2012; Mellín-Rosas et al. 2016). En Corpoica, CI La Selva, se han llevado a cabo estudios de hongos entomopatógenos adaptados a las condiciones de Colombia y han mostrado un buen desempeño durante los ensayos preliminares.







Capítulo II

Tamarixia radiata (Waterston)

Takumasa Kondo

A continuación se presentan las principales características morfológicas de la *T. radiata*, ectoparasitoide del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri,* con base en la literatura científica e información generada en estudios realizados en Corpoica, CI Palmira.

Taxonomía

Clase: Insecta
Orden: Hymenoptera
Familia: Eulophidae
Género: *Tamarixia*
Especie: *Tamarixia radiata* (Waterston)

Distribución

Tamarixia radiata (figura 3) ha sido reportada en el continente americano en países como Argentina, Brasil, México, Puerto Rico, EE. UU. (Florida y Texas) y Venezuela. Su presencia se ha informado además en las islas Reunión, Mauricio y Guadalupe, y en países del continente asiático como Arabia Saudita, China, India, Indonesia, Malasia, Nepal, Pakistán, Filipinas, Taiwán, Tailandia, y Vietnam (Cermeli et al. 2007; Lizondo et al. 2007; Mann y Stelinski 2010; Zuparko et al. 2011).



Figura 3. *Tamarixia radiata* (Waterston). a. Ninfa del quinto instar emerge de *Diaphorina citri*; b. Macho, se pueden notar las antenas plumosas; c. Hembra adulta.
Fuente: Kondo et al. (2012)

En Colombia, Rubio-González et al. (2011) dieron a conocer de manera informal, a mediados de 2011, el hallazgo de *T. radiata* parasitando a *D. citri* en huertos de cítricos en el departamento de Cundinamarca. No obstante, el primer comunicado oficial dio a conocer su presencia en los departamentos de Cundinamarca (Ebratt- Ravelo et al. 2011a; 2011b) y Norte de Santander (Ebratt-Ravelo et al. 2011a). Posteriormente, Kondo et al. (2012) informaron de su presencia en el Valle

del Cauca en los municipios de Palmira, Sevilla y Zarzal; más reciente fue reportada en el departamento de Caldas (Restrepo-García et al. 2016).

Identificación

Para la identificación de los parasitoides, se colectaron muestras de ninfas de *D. citri* sobre tres especies de *Citrus* (Rutaceae): *Citrus reticulata* Blanco, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. cv. Salustiana y *Citrus latifolia* Tanaka. Los especímenes fueron identificados como *Tamarixia radiata* (Waterston) por John Heraty, taxónomo de la Universidad de California, en Davis, a través de la descripción original de Waterston (1922), además de comentarios adicionales realizados por Prinsloo (1980) y Hayat y Shahi (2004). Existen 47 especies de *Tamarixia* descritas hasta el momento; a pesar de ello, solo hay claves taxonómicas para las especies presentes en Norteamérica, Europa y la India (Kondo et al. 2012; Zuparko et al. 2011).

Morfología de los adultos

Los adultos de *T. radiata* son pequeñas avispas negras de 0,92 a 1,04 mm de largo, con los ojos bastante separados (figura 3a, b y c); la cabeza es un poco más ancha que larga y las alas son hialinas con venas amarillo pálido (Kondo et al. 2012). El dimorfismo sexual es evidente entre el macho (figura 3b) y la hembra adulta (figura 3c); los machos son ligeramente más pequeños que las hembras en cuanto a la longitud total y la extensión de las alas; el ovipositor de la hembra apenas sobresale del abdomen (figura 3c) (Waterston 1922). Las antenas de los machos son 1,5 veces más largas que las de las hembras. *Tamarixia radiata* se puede distinguir de otras especies del género según algunos caracteres básicos como son (Kondo et al. 2012):

a. Con escasas setas en la línea de base de las alas (*especulum*).
b. El fémur y tibia generalmente amarillos, pero a veces ligeramente oscurecidos en el dorso.
c. El disco del propodeo liso y sin carinas entre el espiráculo y la carina media.
d. El abdomen oscuro en los lados y la parte dorsomedia de color amarillo (menos pronunciado y más anterior en los machos).
e. El macho tiene un órgano sensorial ventral distinto, situado en el tercio basal del escapo, en lugar de estar en la parte media.

Control biológico

El uso indiscriminado de productos químicos para el control de *D. citri* ha desestabilizado el equilibrio existente entre otras plagas secundarias de los cítricos, por lo que los esfuerzos de las investigaciones en cuanto al manejo de este vector se han centrado mayormente en el uso del control biológico (Rae et al. 1997). Debido a esto, *T. radiata* está siendo difundida en las regiones productoras de cítricos de todo el mundo (Michaud 2004; Noyes 2011; Zuparko et al. 2011). Antes de la introducción de *T. radiata*, especies del género *Tamarixia* no se habían registrado en Suramérica, a excepción de algún registro ocasional de especies solo identificadas en cuanto a género o familia (LaSalle 1994).

Uno de los de mayores éxitos en la utilización de este parasitoide para el control de *D. citri* lo constituye el caso de isla de Reunión, donde fue introducido desde Pakistán (Étienne y Aubert 1980).







Capítulo III

Biología de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)

Camila Yesenia García Córdoba
Takumasa Kondo
Yaneth Patricia Ramos Villafañe
Paola Andrea Sotelo Cardona

El ciclo biológico de *T. radiata* en Colombia se determinó en los laboratorios de Corpoica, Centro de Investigación Palmira, departamento de Valle del Cauca. El laboratorio está ubicado a los 30° 30´ 39.0˝ N y 76° 18´ 55.5˝ O, con una altitud de 1006 msnm. En condiciones de temperatura y humedad relativa controladas de 27±3 °C y 68 %±9 %, respectivamente, y fotoperiodo 12:12 h luz:oscuridad, regimén natural de luz.

Los ejemplares de *T. radiata* se colectaron el corregimiento de Rozo, municipio de Palmira. Se tomaron muestras de ramas de plantas infestadas con ninfas de *D. citri* con síntomas de parasitismo, caracterizadas por una coloración marrón. Las ninfas se colocaron individualmente en viales de vidrio de 35 ml, los cuales estaban cubiertos con muselina fina a la espera de la emergencia de *T. radiata*.

En una unidad experimental compuesta por un recipiente transparente de vidrio, de boca ancha, con capacidad para 3,8 litros (1 galón), provista de una tapa de tela de velo sujetado por una banda elástica de caucho, se colocó un frasco pequeño de vidrio de 200 ml con agua destilada en su interior y la boca cubierta con papel aluminio, al cual se le hizo un orificio por el que se introdujo un brote tierno de mirto. Cada brote se infestó con veinte ninfas de quinto instar de *D. citri* y fueron expuestas por 24 horas a una pareja de *T. radiata* de 24 horas edad. Un total de tres repeticiones y 60 ninfas de *D. citri* fueron evaluados en este experimento. Transcurrido el tiempo contemplado, los parasitoides fueron retirados y las ninfas de *D. citri* fueron trasladadas a cajas de Petri de 15 cm de diámetro. Diariamente se observó bajo estereoscopio el desarrollo de *T. radiata*, se determinó el porcentaje de parasitismo y se realizó un seguimiento a las ninfas parasitadas de *D. citri* hasta la emergencia de los adultos del parasitoide (es decir, tiempo de desarrollo del parasitoide).

Desarrollo del huevo, cinco estados ninfales y estado adulto de *Tamarixia radiata*

A continuacion se describen las características morfológicas y algunos datos biológicos de los diferentes estados de desarrollo de *T. radiata*, desde el huevo hasta el estado adulto con base en la literatura científica y observaciones realizadas en Corpoica, CI Palmira.

Huevos

La hembra adulta de *T. radiata* por lo general deposita un huevo, aunque raramente dos en el lado ventral de la ninfa de *D. citri*, con frecuencia en la división entre el tórax y el abdomen, cerca del punto de unión de las coxas posteriores (figura 4a), tal como lo reportan Mann y Stelinski (2010). Generalmente son transparentes, lo que dificulta su observación. Hoy et al. (c2006) señalan que una hembra adulta de *T. radiata* puede depositar hasta 300 huevos. Estos datos coinciden con las observaciones realizadas en Corpoica, CI Palmira.

Larvas

Las larvas recién nacidas (figura 4b) succionan el líquido desde el punto de contacto con el hospedero. Durante su desarrollo, las larvas se mueven por toda la parte ventral del cuerpo de la ninfa y consumen su contenido hasta causar la muerte progresiva de su hospedante (Mann y Stelinski 2010). Aunque en ocasiones más de un huevo puede

ser colocado debajo de la ninfa, una sola larva del parasitoide suele alcanzar el estado adulto, por tal motivo *T. radiata* es considerado un parasitoide solitario. Estos datos han sido corroborados mediante observaciones realizadas en Corpoica, CI Palmira.



Fotos: Camila Yesenia García Córdoba

Figura 4. Huevo y larva del primer instar de *Tamarixia radiata* en su hospedero *Diaphorina citri*. a. Huevo de *T. radiata* en zona ventral de *D. citri*; b. Larva de *T. radiata* en zona ventral de *D. citri*.

Pupas

Tamarixia radiata pasa por un estado de prepupa (figura 5a) y otro de pupa (figura 5b). Estos procesos ocurren dentro de la ninfa parasitada y se hacen evidentes por el cambio de coloración y aspecto. Durante este paso, las ninfas parasitadas reciben el nombre de momias. Finalizada la fase, las avispas adultas emergen a través de un orificio en el tórax o la cabeza de la momia parasitada (figura 5c).



Fotos: Camila Yesenia García Córdoba

Figura 5. Desarrollo de *Tamarixia radiata* debajo de una ninfa de *Diaphotina citri* parasitada. a. Estado de prepupa de *T. radiata*; b. Pupa de *T. radiata;* c. Ninfa de *D. citri* momificada.

Desarrollo y comportamiento

El estado larval es móvil y se desplaza por toda la parte ventral abdominal y torácica de la ninfa; mantiene la misma coloración casi transparente de los huevos, lo que hace casi imperceptible su presencia. La alimentación no se hace notoria ya que la ninfa de *D. citri* aún permanece móvil. La duración aproximada de este estado es de cuatro a seis días.

Cuando el estado larval es avanzado, la coloración cambia a amarilla y aunque su desplazamiento por el abdomen y tórax se mantiene, comienza a perder movilidad y se dedica solo a alimentarse de la hemolinfa del hospedante. Durante este tiempo la ninfa de *D. citri* inicia un período de premomificación y su coloración cambia gradualmente a marrón oscuro. Las heces fecales de la larva se acumulan en la parte posterior de la ninfa para formar lo que se conoce como meconio.

A los ocho días, la larva pasa al estado de prepupa. Este estado se caracteriza por la forma alargada y delgada que va tomando la larva; ya se puede observar el esbozo del parasitoide, además de la ausencia de movilidad y la apariencia momificada de las ninfas de *D. citri*. Entre los días nueve y once se hace notorio el estado de pupa. Doce días posteriores a la puesta del huevo empiezan a emerger los adultos de *T. radiata* que, con la ayuda de las mandíbulas, perforaran un orificio de salida en la parte dorsal del exoesqueleto de la ninfa de *D. citri*.

Datos biológicos

El ciclo de desarrollo desde huevo hasta adulto de *T. radiata* tiene una duración de 10 a 13 días (figura 6), con un porcentaje de parasitismo del 25 % y una emergencia de adultos del 90 %.

Se encontró que la proporción de sexos fue de 1:1. Así mismo, se observó que la longevidad promedio de los adultos fue de tres a cinco días.

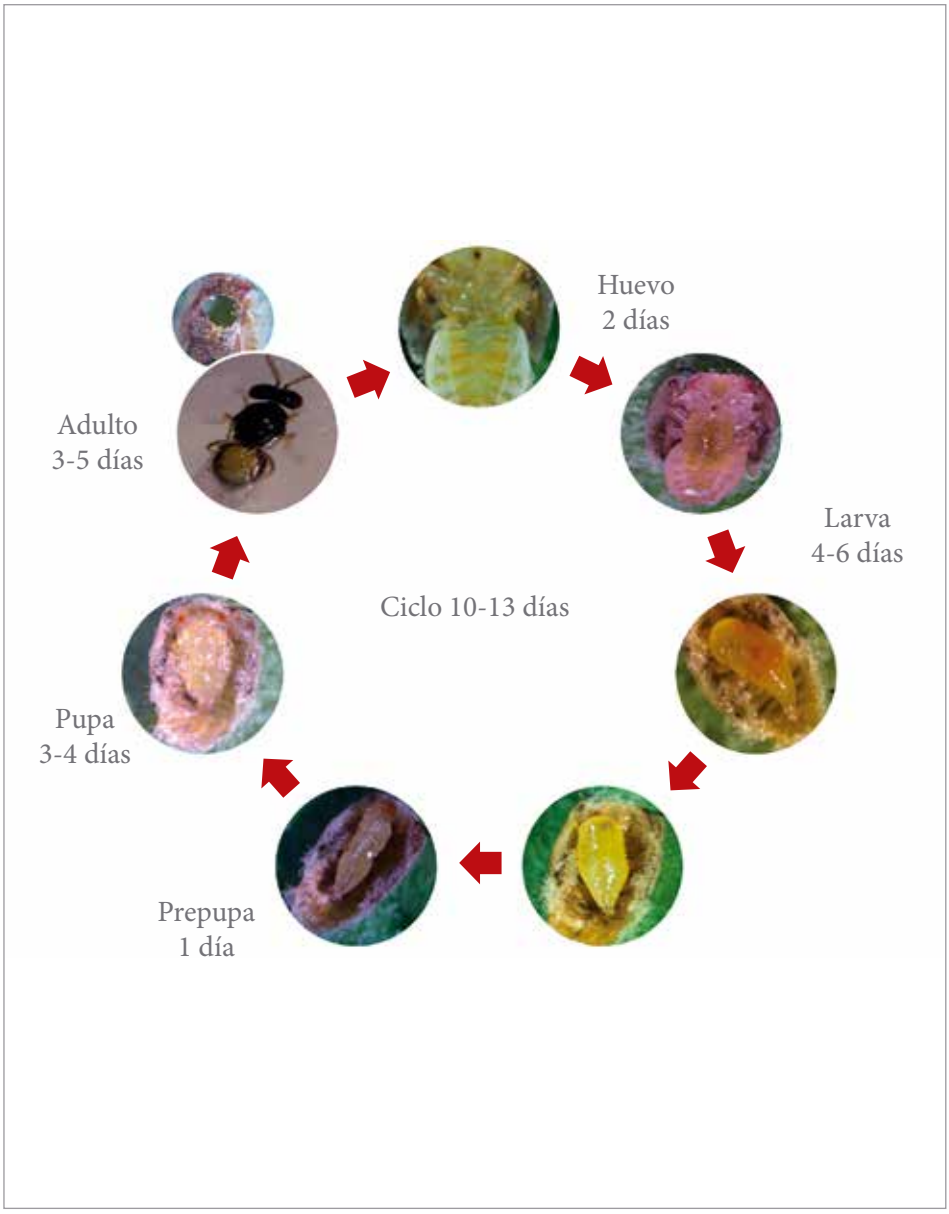


Figura 6. Ciclo de vida de *Tamarixia radiata* sobre *Diaphorina citri* en condiciones del Valle del Cauca, Colombia.
Fuente: Elaboración propia





Capítulo IV

Siembra y mantenimiento de *Murraya paniculata* (L.)

Laura Isabel Colorado Herrera
Camila Yesenia García Córdoba
Mauricio Fernando Martínez
Takumasa Kondo
Yenifer Campos Patiño
Yaneth Patricia Ramos Villafañe

Este capítulo ofrece información sobre la siembra y el mantenimiento de *Murraya paniculata*, planta hospedera del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*, desde su clasificación taxonómica hasta las diferentes técnicas agronómicas para su multiplicación y mantenimiento.

Clasificación taxonómica de *Murraya paniculata* (L.)

La siguiente información taxonómica proviene del banco de datos de plantas del Jardín Botánico de Missouri, EE. UU. (Missouri Botanical Garden c2016a).

Reino: Plantae
Clase: Equisetopsida C. Agardh
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden: Rosanae Takht.
Orden: Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia: Rutaceae Juss.
Género: *Murraya* J. Koenig ex L.
Especie: *Murraya paniculata* (L.) Jack

Sinónimos de *Murraya paniculata*: *Camunium exoticum* (L.) Kuntze, *Chalcas exotica* (L.) Millsp., *Chalcas paniculata* L., *Murraya exotica* DC., *Murraya exotica* L., *Murraya omphalocarpa* Hayata, *Murraya paniculata* var. *omphalocarpa* (Hayata) Tanaka

Nombre común: Limonaria y mirto (México), mirto o azahar de la India (Colombia), café de la India, jazmín de Persia, naranjo de jazmín o mirto (Puerto Rico), murallera, muralla o azahar de la India (Cuba).

Origen, distribución y características

El mirto *M. paniculata* es originario del sureste de Asia (China, India, Laos, Sri Lanka, Vietnam, noreste de Australia y Taiwán) y puede adaptarse a países tropicales (Bhattacharjee 2000). Es una planta perenne, dicotiledónea, de hojas compuestas imparipinnada, de foliolos pequeños (figura 7a), con flores blancas y aromáticas (figura 7a y b). Los frutos tienen forma de bayas oblongas y cuando están maduros pueden presentar coloraciones que van desde de rojo hasta naranja (figura 7c). El mesocarpio tiene una consistencia mucilaginosa fácil de desprender.

Gracias a su fácil propagación por semillas, se ha dispersado hacia muchos lugares y se cultiva en las Antillas y en América tropical continental. Esta especie se adapta a un amplio rango de condiciones. Crece en lugares desde el nivel del mar hasta elevaciones de 1.300 msnm; se desarrolla en suelos que tengan buen drenaje, resiste temperaturas de -4 °C y crece tanto en la sombra como en la luz (Casado et al. 2011).

Por tradición, es una planta de uso ornamental de crecimiento arbustivo, con frecuencia encontrada en traspatios, zonas urbanas, panteones, parques, jardines y otras áreas públicas. También se utiliza como planta para follaje de corte, cercas vivas y barreras rompevientos (Casado et al. 2011; Senasica 2014). En Colombia su principal uso es como planta para follaje de corte para arreglos florales y es un arbusto muy común en jardines de traspatio.



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 7. El mirto, *Murraya paniculata* (L.) Jack. a. Arbusto con flores; b. Primer plano de una flor de mirto; c. Frutos.

Uso como sustrato en crías de *Diaphorina citri*

El mirto es la planta que más se emplea como sustrato en la cría masiva de *D. citri* en el mundo, debido a su porte bajo y a la carencia de espinas. De fácil manejo, posee un rápido crecimiento y brotación (características deseables en el proceso de producción de *T. radiata*), en comparación con otras especies de la familia Rutaceae, incluido el género *Citrus* (Senasica 2014). Otras características que la hacen deseable como sustrato en la cría masiva de *D. citri* es la resistencia al agente causal del HLB, *Ca*. L. asiaticus y a los daños directos causados por la alimentación del psílido en comparación con los cítricos (Skelley y Hoy 2004).

Otro de los beneficios del uso del mirto para el mantenimiento de las crías del psílido es el adecuado desarrollo de las poblaciones del insecto por la permanente emisión de brotes, lo cual permite mantener cohortes con edades conocidas (Tsai et al. 2002). Lo anterior es diferente en cítricos, en los que la producción de brotes es de mayor intermitencia, con reducidas tasas de desarrollo foliar y elevados costos de mantenimiento, lo que restringe la oferta del importante insumo para la producción de *D. citri* (Senasica 2014).

Para el establecimiento de una plantación de mirto se requiere la ejecución de labores previas que son fundamentales para la supervivencia de las plantas. La selección de semillas y el desarrollo de plantas en vivero son dos aspectos principales para iniciar el trabajo de producción de las mismas.

Frutos

La recolecta de frutos de mirto en campo es una actividad esencial para obtener material para crear un semillero necesario para mantener y reproducir *D. citri*.

Colecta de frutos

La recolección de frutos de *M. paniculata* (figuras 7c; 8a, b y c) se puede realizar en plantas de traspatio, en zonas rurales o urbanas. Para el Valle del Cauca, se ha observado que la mayor fructificación ocurre entre los meses de mayo a junio y noviembre a diciembre. Durante esos períodos se puede obtener el mayor número de frutos para la producción de semillas. En el resto del año se presentan cosechas pequeñas ocasionales, pero poco adecuadas para la producción de semillas.



Fotos: Camila Yesenia García Córdoba y Mauricio Fernando Martínez

Figura 8. Frutos de mirto, *Murraya paniculata* (L.) Jack. a. Frutos de mirto cosechados a mano; b. Frutos de mirto en estado de madurez de cosecha; c. Fruto despulpado que muestra semilla en su interior.

Para colectar frutos de mirto se recomienda:

1. Seleccionar plantas jóvenes en estado productivo, con abundantes frutos.
2. Seleccionar plantas que presenten un buen estado fitosanitario, sin plagas.
3. Plantas con buena arquitectura, frondosas y de hojas verdes, sin síntomas visibles de deficiencias nutricionales.
4. Seleccionar semillas provenientes de una cosecha uniforme.
5. Seleccionar frutos maduros y de tamaño similar.
6. No se recomienda recoger frutos ni semillas del suelo.

La cosecha se debe realizar a mano, cuando los frutos presenten una coloración roja o anaranjada y su consistencia sea ligeramente blanda (figura 8a y c).

Traslado de frutos

Debido a que los frutos de mirto son altamente perecederos, se recomienda trasportarlos en recipientes plásticos con tapa que permitan la aireación, y así evitar la fermentación (Casado et al. 2011) (figura 9a). Si van a ser trasportados por largos períodos, es preferible hacerlo en neveras de poliestireno expandido (icopor), con hielo o gel refrigerante. Se debe evitar almacenar frutos en bolsas plásticas, ya que acelera la fermentación y el deterioro de las semillas. En todo momento se recomienda mantener condiciones de temperaturas frescas.



Fotos: Camila Yesenia García Córdoba y Mauricio Fernando Martínez

Figura 9. Despulpe de frutos maduros. a. Frutos de mirto, *Murraya paniculata* en recipiente de plástico para transporte; b. Despulpe y limpieza de semillas de mirto con un cernidor; c. Secado de semillas con papel absorbente.

Despulpado de frutos y obtención de semillas

Las semillas de los frutos de mirto se extraen de forma manual, al eliminar completamente el pericarpio (figura 9b). Para este proceso, los frutos se frotan sobre un tamiz o superficie rugosa y se hacen lavados constantes con agua a presión para retirar los residuos de pulpa y de mucilago (Jaramillo et al. 2012). Posteriormente las semillas se sumergen en agua con el objetivo de eliminar las vanas (semillas que tienen el interior vacío o que están secas), las cuales flotan durante este proceso. Se recomienda que la extracción se realice en sitios frescos protegidos del sol, con disponibilidad de agua y condiciones de limpieza que eviten contaminaciones con microorganismos que afecten o inhiban la germinación (Bewley y Black 1994).

Una vez que se obtengan las semillas limpias y seleccionadas, se recomienda hacer un tratamiento de desinfección con agua caliente a 50 °C, durante cinco minutos, como protección contra los hongos que atacan en el almacenamiento, y la germinación.

También se puede hacer la inmersión durante cinco minutos en una solución con fungicida a base de Fosetyl + Propamocarb en dosis de 2 ml/L de agua. Este tratamiento inhibe la germinación y penetración de esporas de hongos en las semillas. Algunos productores de semilla recomiendan la aplicación de fungicidas en polvo humedecible; los productos más utilizados son a base de Carboxin + Thiram en dosis de 1,0 a 1,5 gramos del producto por cada kilogramo de semilla.

Semillas

La calidad de las semillas es un componente crítico para tener un semillero saludable. A continuación se dan recomendaciones en cuanto al secado de la semilla, almacenamiento, formación de semilleros, trasplante y manejo de plantas en condiciones de invernadero.

Secado de semilla

Inmediatamente después del despulpe, una vez que la semilla esté limpia, se procede al secado sobre papel periódico o papel absorbente (figura 9c) bajo sombra, evitando la radiación solar directa. Las semillas se pueden dejar secar por un periodo de tres a cuatro días, tiempo en el cual se debe cambiar el papel de secado para evitar la proliferación de microorganismos patógenos que afectan o inhiben la germinación (Wulijarni-Soetjipto 1988).

Se recomienda realizar el secado de las semillas de mirto en lugares frescos y sombreados, con temperaturas que oscilen de 20 a 25 °C (Senasica 2014) (figura 9c). Sin embargo, cuando las semillas de esta planta son secadas a 28 °C, los contenidos de humedad en ellas son cercanos al 5 % y el porcentaje de germinación puede ser superior al 90 % (Wulijarni-Soetjipto 1988). Por otra parte, no se deben secar a la luz directa del sol, ya que se acelera la deshidratación, lo que afecta de manera negativa el embrión por la separación de los cotiledones. Según las condiciones establecidas en Corpoica, CI Palmira, se encontró que durante el mes de diciembre de 2015 las semillas secadas a la sombra durante dos días mostraron un contenido de humedad de 4,9 % y una germinación promedio de 70 %.

Almacenamiento de semillas

Una vez que las semillas estén secas y antes del almacenamiento, se deben seleccionar nuevamente para descartar aquellas dañadas con cotiledones desprendidos o deformes. El almacenamiento se debe realizar en lugares frescos, con temperaturas entre 4 y 10 °C y en recipientes plásticos con capacidad no mayor a 1 kg (tabla 2) (Wulijarni-Soetjipto 1988). Resultados de investigaciones anteriores demostraron que después de 60 días de almacenamiento, los porcentajes de germinación de semillas de *M. paniculata* oscilaron entre el 20 y 30 % (Ferdousi et al. 2014).

Tabla 2. Características de los frutos y semillas de *Murraya paniculata*, colectados en el Valle del Cauca, Colombia

Características	Valor
Peso de frutos (g)	0,48
Diámetro ecuatorial (mm)	8,12
Diámetro longitudinal (mm)	10,07
Número de semillas por fruto	1 a 2
Índice de frutos (número de frutos/kilogramo de fruta)	2.078
Índice de semilla (g/100 semillas)	12,36
Número de semillas/kilogramo de semillas	8.090

Fuente: Elaboración propia

En estudios realizados por González-Cabrera et al. (2016b) se recomienda que para almacenar semillas de mirto por un máximo de 21 meses y con 50 % de germinación, estas se deben secar hasta alcanzar un peso de 39,8 % del peso inicial. Luego, almacenar en recipientes sellados y añadir 25 g de sílica gel por cada 100 g de semilla seca y conservar a 5 °C. Estos resultados indican que las semillas de mirto no se comportan como semillas ortodoxas, ya que no toleran almacenamiento a bajas temperaturas (ISTA 2004).

Durante el almacenamiento de las semillas se recomienda realizar inspecciones periódicas, con el objetivo de asegurarse de que no existan daños físicos o de que no se presenten alteraciones por hongos. En caso de que se presenten afectaciones fúngicas, se recomienda la aplicación de fungicidas en polvo humedecible nuevamente.

Semillero

El manejo adecuado de las semillas es fundamental para obtener una alta eficiencia en la germinación. Uno de los aspectos más importantes cuando las semillas han estado almacenadas durante varios meses es realizar una prueba de viabilidad, para conocer la capacidad de germinación y determinar la cantidad necesaria de semilla que se debe sembrar (Hong y Ellis 1996; González-Cabrera et al. 2016a; 2016b). Los sustratos para la germinación deben estar desinfestados, preferiblemente con fungicidas de amplio espectro que ofrezcan una mayor protección a las semillas.

Para la producción de plantas de mirto en Corpoica, CI Palmira, se utilizó un sustrato compuesto por turba, vermiculita y cascarilla de arroz en iguales proporciones. Es importante lavar la cascarilla de arroz antes de incorporarla al sustrato para evitar efectos negativos por residuos de herbicidas.

Se utilizaron semilleros de 60 alveolos, con una capacidad de 130 cm^3 de sustrato por cada alveolo. Antes de realizar la siembra, es recomendable aplicar agua a los sustratos en las bandejas de germinación para fomentar un buen porcentaje de brote. El tamaño del semillero depende de la disponibilidad de semillas y del número de plantas necesarias para la cría. Para facilitar el manejo, se recomiendan semilleros con un máximo de un metro de ancho, lo que permite realizar prácticas culturales tales como control de arvenses, fertilización, riego, entre otras (Caicedo et al. 2006).

Con el objeto de disminuir la evaporación de agua del sustrato y mantener la humedad óptima para las semillas durante la germinación y la siembra, es aconsejable cubrir los semilleros con polisombra con reducción de luz entre el 40 % y 60 % (Burgos et al. 2011). También se pueden hacer semilleros en almácigos (figura 10a); se utiliza arena como sustrato de germinación. Para este tipo de semilleros se debe garantizar un buen drenaje y la buena desinfección de la arena para evitar daños por hongos.



Fotos: Yaneth Patricia Ramos Villafañe

Figura 10. Elaboración de un semillero de mirto. a. Germinador de semilla de mirto, *Murraya paniculata*, en almacigo, con polisombra al 50 %; b. Mezcla de sustratos utilizados para la germinación de semillas y producción de plantas de *M. paniculata*; c. Siembra de semillas de mirto en semilleros.

Los resultados obtenidos por Burgos et al. (2011) indican que la germinación de semillas de *Citrus volkameriana* Ten. & Pasq. fue de 88 % cuando germinó en condiciones de casa de malla con polisombra al 50 %, elevada a 2,5 metros. Sin embargo, la germinación obtenida en casa de malla sin polisombra fue de 57 %. Senasica (2014) recomienda como condiciones adecuadas para la germinación 30±3 °C y 50-60 % HR.

Las semillas se deben sembrar entre 1,5 a 2,0 cm de profundidad aproximadamente (figura 10c). Los semilleros deben tener una profundidad de al menos 6 cm, para permitir la profundización de las raíces una vez que las semillas hayan germinado (Senasica 2014). Posteriormente se debe cubrir con el sustrato y hacer riegos a baja presión para mantener la humedad en el sustrato y evitar que las semillas se salgan de los alveolos. Si la siembra se va a realizar en semilleros en almacigo, las semillas se deben poner en hileras separadas a 10 cm una de la otra. En ambos casos, se recomienda mantener la polaridad de la semilla.

En un estudio sobre la germinación de semillas de *M. paniculata*, donde se compararon el efecto de temperaturas entre 15 y 25 °C, con fotoperiodo de 12 horas luz, se indica que no hubo influencia de la temperatura o fotoperiodo sobre la germinación de las semillas; se obtuvieron porcentajes de germinación del 79 % (White et al. 2006). Sin embargo, estudios realizados por Senasica (2014) demostraron que para acelerar la germinación es recomendable colocar un plástico negro sobre los semilleros de mirto durante 10 días, y removerlo solo para regar y monitorear la germinación.

Transplante

Para el trasplante se utiliza un sustrato previamente desinfectado, compuesto por turba, vermiculita y cascarilla de arroz, a una proporción de 1:1:1 (figura 10b). Posteriormente, se realiza una abertura poco profunda y centrada en el suelo, donde se deposita la plántula. El diámetro y la profundidad de la abertura deben ser proporcionales al desarrollo radicular, y deben dar el espacio suficiente a la raíz para evitar que esta se doble.

Según Senasica (2014), las plantas de mirto se deben trasplantar cuando hayan desarrollado las dos primeras hojas verdaderas o cuando hayan alcanzado 10 cm de altura (figura 11a). En condiciones del CI Palmira, se determinó que el tiempo de semillero oscila entre los 60 y 75 días.



Fotos: Yaneth Patricia Ramos Villafañe

Figura 11. Trasplante de mirto. a. Trasplante de plantas de mirto, *Murraya paniculata*, pocos días después de germinación en macetas con sustrato; b. Macetas recién sembradas con plantas de mirto; c. Bolsas de plástico con plantas de mirto.

Una vez que las plantas estén listas para el trasplante, se siembran en macetas o bolsas plásticas para vivero con capacidad para 2 kg (figuras 11a y b). Se recomienda usar bolsas plásticas de color negro calibre 4, con perforaciones para el drenaje (figura 11c).

Al momento del trasplante se deben seleccionar plantas con raíces rectas y con buen sistema radicular. Siempre hay que tener en cuenta que, cuando sean retiradas de los semilleros, no deben sufrir daños mecánicos. Se deben eliminar plantas que se aparten de la altura promedio o que presenten deformaciones. Una vez se haya realizado el trasplante se debe regar con agua y hacer presión al sustrato para evitar los espacios entre las raíces y el sustrato (Muñoz 2007) (figura 11a).

El trasplante se debe realizar en horas tempranas de la mañana o avanzada la tarde cuando las temperaturas no son elevadas. Al momento de la siembra es recomendable que el suelo esté húmedo y luego volver a regar. El riego debe ser en forma de fina lluvia, de esta manera se evita que las raíces de las plantas queden al descubierto y se compacte el sustrato.

Durante todo del proceso de trasplante se deben mantener medidas sanitarias preventivas, mediante la aplicación de productos contra hongos y bacterias que puedan causar daño a las plantas durante la fase de vivero (Luis et al. 2010). En el vivero, las plantas de mirto deben tener un desarrollo lo más homogéneo posible, el cual se logra con siembras uniformes y resiembras tempranas, siempre descartando las plantas que no cumplan con las características deseadas.

Manejo de plantas de mirto, *Murraya paniculata*, en vivero

El manejo agronómico es esencial para mantener las plantas de mirto saludables. Ellas son necesarias para la cría de *D. citri*.

Riego

En el vivero, el riego se maneja de acuerdo con la necesidad de la planta y con la ubicación del mismo. Está directamente relacionado con los factores ambientales y la textura del sustrato.

En las condiciones de los viveros de Corpoica, CI Palmira, se recomienda hacer tres riegos por semana. Se puede realizar de forma manual, con regaderas o manguera provista de regadera fina o automatizada. Para el riego automatizado se puede utilizar un sistema de precisión, mediante el uso de goteros o microaspersores que garanticen gotas finas para que no se produzcan excesos de agua en la maceta o bolsa.

Fertilización

Un aspecto importante que hay que considerar para la fertilización de plantas de mirto es el poco volumen de reservas nutricionales que tienen estas cuando son producidas en bolsas o en macetas. Durante la fase de crecimiento rápido, tanto las concentraciones de nutrientes como el balance entre estos pueden cambiar con celeridad en el medio de crecimiento (Landis 2004). Para alcanzar tasas de crecimiento óptimas, los productores de mirto deben asegurarse de que el medio de crecimiento contenga una cantidad constante y balanceada de todos los minerales esenciales.

Una vez realizado el trasplante y transcurridos ocho días, se recomienda realizar la primera fertilización en *drench*, con la aplicación de un fertilizante compuesto a base de NPK (Rootex + Fosfacel). Según la ficha técnica, las cualidades de este producto están relacionadas con mejor desarrollo del sistema radicular, formación de tejidos vasculares y mayor capacidad para sintetizar hormonas, que en conjunto establecen condiciones para un mayor potencial productivo.

Las fertilizaciones siguientes se pueden realizar cada 30 días. Se utiliza una combinación de minerales que incluyen: sulfato de amonio (4 g/L de agua) o urea (4,13 g/L), nitrato

de potasio (1,5 g/L), Fosfacel (0,5 g/L), ácido fosfórico (0,3 g/L), sulfato de magnesio (0,15 g/L), sulfato de zinc (0,15 g/L), sulfato de boro (0,15 g/L), sulfato de cobre (0,05 g/L) sulfato de calcio (0,05 g/L), sulfato de manganeso (0,05 g/L), en solución, aplicado en remojo (*drench*), a dosis de 100 cc por bolsa o maceta de 2 kg.

Manejo fitosanitario en la producción de plantas de *Murraya paniculata*

El manejo integrado de insectos plaga se debe iniciar desde la fase de semillero y vivero. Esa es la forma más práctica y segura para la producción de plantas sanas de *M. paniculata*. La detección temprana de enfermedades, así como el uso coordinado de diferentes técnicas de prevención en un manejo integrado evita que los patógenos alcancen niveles de daño económico (Aranzazu y Arizpe 2008). Las tácticas de control que se utilizan son preventivas, de tipo cultural, químico o biológico.

En los viveros son comunes las enfermedades foliares causadas por hongos y bacterias, las cuales se deben controlar durante todas las etapas de producción (Joaquim y Zaragosa 1997). Es importante hacer un monitoreo continuo a las plantas, con el objetivo de remover y desechar las hojas con síntomas de necrosis o halo amarillento, además de aquellas plantas que muestren síntomas asociados con la presencia de patógenos (Luis et al. 2010). Se recomienda no manipular las plantas cuando estén húmedas, de esta manera se evita la diseminación de enfermedades.

En los viveros se debe promover buena aireación del lugar y se recomienda evitar el riego excesivo; utilizar siempre la cantidad de agua requerida y un buen drenaje, para impedir que proliferen los hongos del suelo, como *Pythium, Rhizoctonia* y *Phytophthora*. Estos últimos, una vez presentes, causan pudrición de las raíces y su control es difícil (Luis et al. 2010).

Las aspersiones preventivas con fungicidas registrados ante el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) o mediante remojo (*drench*) pueden proteger las raíces del ataque por hongos y ayudar a disminuir el daño que causan, especialmente si se combinan con prácticas culturales preventivas (Joaquim y Zaragosa 1997). Las aspersiones también pueden ser foliares, lo que contribuye al control de estas enfermedades en las zonas aéreas de la planta. Por otra parte, se recomienda mantener el área de producción de *M. paniculata* libre de malezas que puedan hospedar algunas otras especies de patógenos o competencia por nutrientes.

En lo referente al manejo de artrópodos plaga es necesario realizar muestreos de forma permanente para determinar la presencia y daño de estos. En las condiciones de producción de Corpoica, CI Palmira, se encontró que los insectos más comunes son pulgones (Hemiptera: Aphididae), escamas (Hemiptera: Coccoidea), la hormiga cortadora *Atta cephalotes* (L.) (Hymenoptera: Formicidae) e insectos defoliadores como lepidópteros (Lepidoptera) y saltamontes (Orthoptera). Entre ellos, las hormigas cortadoras y los pulgones son los que pueden causar mayor daño económico.

El control de hormigas cortadoras es difícil, pero hasta cierto punto; la presencia de ellas se puede evitar con el establecimiento de barreras físicas o al aplicar hileras de cal agrícola en los puntos de entrada al invernadero. No se han observado en las casas de vidrio; sin embargo, en los viveros, los daños causados por hormigas cortadoras pueden ser significativos.

Para el manejo de insectos chupadores se recomiendan jabones y plaguicidas a base de aceites y evitar el uso de plaguicidas sintéticos, específicamente aquellos que tengan largo efecto residual. Teniendo en cuenta el objetivo para el cual se producen las plantas de *M. paniculata*, es conveniente hacer aplicaciones de plaguicidas solo cuando se observe la presencia y primeros daños del insecto (tabla 3).

Tabla 3. Productos recomendados para el control de plagas en el cultivo de *Murraya paniculata* para la producción del parasitoide *Tamarixia radiata*

Producto o ingrediente activo	Plaga
Jabón líquido o jabón en polvo 3 g/L	Pulgones y escamas
Extracto de nim	Defoliadores
Aceites minerales	Pulgones y escamas
Diazinon granulado	Mosca negra y hormigas
Cipermetrina	Pulgones, escamas y defoliadores
Propamocarb	Ahogamiento de plantas
Captan o sulfato de cobre	Antracnosis

Fuente: Senasica (2014)

Poda de formación

Siete meses después del trasplante, cuando las plantas de mirto tengan una altura de 30-40 cm y su tallo principal esté bien desarrollado, se realiza una poda apical para incentivar la brotación de yemas axilares. Se espera obtener al menos tres brotes tiernos para poder someter la planta a infestación por *D. citri* (Senasica 2014). La poda se hace cortando los primeros 5 cm de la parte apical del tallo principal con una tijera podadora, limpia y desinfectada con hipoclorito al 70 %. Cada vez que se realice la poda, la planta se debe desinfectar con un fungicida.

Materiales e insumos básicos para la producción de plantas de *M. paniculata*

Los materiales e insumos básicos necesarios para la producción de *M. paniculata* se listan en la tabla 4. Estos insumos pueden variar de acuerdo con la región donde se decida realizar el trabajo (veáse también el capítulo VII).

Tabla 4. Materiales e insumos básicos para la producción de plantas de *Murraya paniculata*.

Materiales / insumos	Utilización
Agua de riego (pH cercano a 7); baja o moderada salinidad (clasificación CI-C2); baja a moderada en sodio (clasificación S1-S2)	Riego de plantas, aplicaciones de insumos, limpieza de materiales, y otros
Semillas de *Murraya paniculata*	Producción de plantas
Sustrato base (suelo con textura franca, franca arenosa o franca limosa)	Soporte principal de la planta y fuente de nutrientes
Complemento nutricional del sustrato (composta, vermicomposta, o cualquier suplemento de acuerdo con las condiciones de la región)	Enriquecimiento nutricional y de las propiedades físicas del suelo
Material para estructura y humedad (polvillo de coco lavado, cascarilla de arroz, bagazo de henequén, etc.)	Para brindar estructura y retención de humedad
Cernidero tamiz para tierra	Tamizado y limpieza de materiales para sustrato
Cernidero pequeño	Despulpe de semillas de mirto

(Continúa)

(Continuación tabla 4)

Materiales / insumos	Utilización
Palas y azadón	Mezcla y homogenización de sustrato
Recipiente de germinación de 200 cavidades	Siembra y germinación de semillas
Plástico negro	Acelerar la germinación de semillas
Regadera de mano	Regar las macetas y almácigos con precaución
Manguera para riego (según distancia entre la toma de agua y la posición de las plantas)	Riego de planta adulta
Baldes de 20 litros	Varios
Macetas negras de polietileno de 2 kg	Retención y mantenimiento de plantas
Carretillas	Trasportar materiales diversos
Fertilizantes solidos (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 podadoras (manuales)	Poda de plantas
Machetes	Control de malezas
Jabón en polvo	Lavado de plantas para el control de plagas, contaminantes y residuos.
Fungicidas contra el ahogamiento o secadera de plantas	Control de bongos en post-siembra y post-trasplante
Plaguicidas	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
Tres estructuras protegidas por malla antiáfido y con doble puertas	Protección y mantenimiento de colonias de insectos y plantas
Dos bombas de fumigación de 20 litros	Aplicación de insumos (plaguicidas, fertilizantes)
10 recipientes de plástico de 1 litro	Riego manual de plantas en producción
Papel periódico	Para secado de semilla

Fuente: Elaboración propia





Capítulo V

La planta del curry, *Murraya koenigii* (L.) Spreng., potencial hospedero alterno para la cría masiva de *Diaphorina citri*

Takumasa Kondo

A pesar de que el presente manual para la producción masiva de *T. radiata* tiene como piedra angular el uso de *M. paniculata* como sustrato para la cría del psílido, en países como Estados Unidos de América y Brasil se utiliza la planta de curry, *M. koenigii* para la cría del hospedante *D. citri*. A continuación aparecen algunos datos sobre la taxonomía y las características de la planta del curry que señalan como posible su utilización como sustrato en el sistema de cría de *T. radiata*.

Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la planta de curry, según el banco de datos de plantas del Jardín Botánico de Missouri, EE. UU. (Missouri Botanical Garden 2016b), es la siguiente:

Reino: Plantae
Clase: Equisetopsida C. Agardh
Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
Superorden: Rosanae Takht.
Orden: Sapindales Juss. ex Bercht. & J. Presl
Familia: Rutaceae Juss.
Género: *Murraya* J. Koenig ex L.
Especie: *Murraya koenigii* (L.) Spreng.
Lista de sinónimos: *Bergera koenigii* L., *Chalcas koenigii* (L.) Kurz
Nombre común: Planta de curry, árbol del curry o árbol de hojas de curry

Murraya koenigii, hospedero alterno para la producción masiva de *Tamarixia radiata*

Por años, los programas de control biológico de *D. citri* han utilizado comúnmente *M. paniculata* para la cría masiva del mismo, debido a que no se consideraba que fuera una planta hospedante de la bacteria *Ca*. L. asiaticum, agente causal del HLB (Gottwald et al. 1989).

Los síntomas de la enfermedad raramente se desarrollan en plantas del género *Murraya*. Sin embargo, en experimentos de inoculación controlada se ha comprobado, mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) y PCR convencional, que *D. citri* es capaz de transmitir la bacteria *Ca*. L. asiaticus en *M. paniculata* (34/36 plantas) y *M. exotica* (22/23 plantas); sin embargo, en *M. koenigii* no se reportan plantas infectadas (Damsteegt et al. 2010).

En un estudio más reciente, Ramadugu et al. (2016) determinaron los niveles de resistencia al HLB en plantas de la subfamilia Aurantioideae a la que pertenecen los cítricos; el estudio se realizó en campo durante seis años, en un lote con presencia de HLB; se incluyeron 65 accesiones cítricas y 33 accesiones pertenecientes a otros 20

géneros estrechamente relacionados. Se identificaron ocho categorías y la respuesta de la planta a la enfermedad. Dos especies con respuesta inmunológica, seis resistentes —entre ellas *Murraya koenigii* y *M. paniculata*— y 14 tolerantes.

Las seis especies resistentes, *Bergera koenigii* (= *Murraya koenigii* u hoja de curry), *Casimiroa edulis* (zapote blanco), *Eremocitrus glauca*, *Murraya paniculata*, *Naringi crenulata*, y *Zanthoxylum ailanthoides*, a pesar de ser capaces de replicar el patógeno de forma transitoria, la bacteria Liberibacter no se puede establecer en estos hospedantes. La planta de curry *M. koenigii* se cultiva comúnmente y se conoce como un hospedante preferido del psílido (Damsteegt et al. 2010; Westbrook et al. 2011). En el ensayo de campo, Ramadugu et al. (2016) detectaron el patógeno causante del HLB solo una vez en seis años, lo que la hace una buena candidata como planta hospedante dentro de un programa de cría masiva de *D. citri* y *T. radiata*.

Plantas de mirto (*Murraya paniculata*) infectadas con *Ca*. L. asiaticus fueron utilizadas para inocular plantas sanas de mirto y naranja dulce Madam Vinoso. Se obtuvo como resultado el desarrollo de la enfermedad en el 25 % de las plantas inoculadas. A pesar de esto, las conclusiones mostraron que existe una considerable variabilidad en las tasas de infección, concentración de bacteria y la persistencia de *Ca*. L. asiaticus en las plantas de mirto infectadas (Damsteegt et al. 2010).

Otra de las características que hacen de la planta de curry (*Murraya koenigii*) un sustrato viable para la cría de *D. citri* es que el psílido se puede alimentar no solo en los brotes tiernos sino también en las hojas jóvenes. Por tal razón, se usa en la actualidad en la cría masiva de *D. citri* en la Florida (EE. UU.) y en algunos laboratorios de Brasil.

Debido al reciente informe sobre la presencia de *Ca*. L. asiaticus en el departamento de la Guajira (Colombia 2015), se recomienda utilizar semillas o plantas de curry, *M. koenigii*, y que la colonia de *D. citri* en la cría esté libre de la bacteria causante del HLB para garantizar una producción limpia de *D. citri* y *T. radiata*.

Vale aclarar que no hay que confundir a *Murraya koenigii* (árbol de curry) con el condimento conocido como curry, el cual es una mezcla de diferentes especias. Existe otra planta: *Helichrysum italicum* G. Don f. (Asteraceae), conocida también como planta de hojas de curry, o planta del curry, que no tiene relación alguna con *M. koenigii.*



Capítulo VI

Diaphorina citri Kuwayama, hospedante de *Tamarixia radiata* (Waterston)

Takumasa Kondo
Camila Yesenia García Córdoba
Paola Andrea Sotelo Cardona
Yaneth Patricia Ramos Villafañe

En este capítulo se provee información sobre el insecto hospedero *D. citri*, desde su clasificación, distribución geográfica y características morfológicas. También se incluye una clave taxonómica para diferenciar los estados de desarrollo del psílido, herramienta esencial para hacer seguimiento al crecimiento del insecto, determinar el tiempo de parasitación y de respuesta funcional de su parasitoide en la toma de datos de control de calidad y estudios.

Clasificación taxonómica *Diaphorina citri* Kuwayama

Clase: Insecta
Orden: Hemiptera
Suborden: Sternorryncha
Superfamilia: Psylloidea
Familia: Liviidae
Género: *Diaphorina*
Especie: *Diaphorina citri*
Lista de sinónimos de *Diaphorina citri*: *Euphalarus citri* Kuwayama 1908

Distribución geográfica

El psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) se encuentra ampliamente distribuido en áreas tropicales y subtropicales de Asia (Afganistán, Arabia Saudita, China, Hong Kong, India, Indonesia, Malasia, Birmania, Nepal, Pakistán, Filipinas, Islas Ryukyu, Sri Lanka, Taiwán, Tailandia) (Mead y Fasulo s. f.). En las zonas del Caribe y las Américas, su presencia ha sido informada en las Bahamas, Islas Caimán, Jamaica, República Dominicana, Cuba, Puerto Rico, además de interceptaciones de Santo Tomás y Belice; está presente también en Guadalupe, México, Argentina, Venezuela (Mead y Fasulo s. f.) y Brasil (Costa Lima 1942; Catling 1970).

Diaphorina citri también se encuentra en el continente africano en Reunión y Mauricio. En junio de 1998, el insecto fue informado en dos condados de la costa este de Florida, EE. UU., pero su presencia se limitó solo a plantas de jardines urbanos. Para septiembre de 2000, ya se había extendido a 31 condados de ese estado, y también a Hawái (Halbert y Núñez 2004; Mead y Fasulo s. f.). El descubrimiento de *D. citri* en Arabia Saudita fue el primer registro en el cercano oriente (Wooler et al. 1974).

En Colombia, *D. citri* fue registrada por primera vez en 2007 y desde entonces ha colonizado 26 departamentos del país: Antioquia, Arauca, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Caldas, Caquetá, Casanare, Cauca, Cesar, Córdoba, Cundinamarca, Huila, La Guajira, Magdalena, Meta, Nariño, Norte de Santander, Quindío, Risaralda, San Andrés, Santander, Sucre, Tolima, Valle del Cauca y Vichada (Ebratt-Ravelo et al. 2011a 2011b; ICA 2010; King 2012; Kondo y Simbaqueba-Cortés 2014; Kondo et al. 2012).

King (2012) informó la presencia de *D. citri* en el departamento de Tolima, Colombia, en plantas de lima acida Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka), mandarina arrayana y oneco (*Citrus reticulata* Blanco), naranja valencia (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), limón volcameriano (*Citrus volkameriana* Ten. & Pasq.), mirto (*Murraya paniculata* (L.) Jack) y swinglea. En Colombia, *D. citri* es una especie común sobre *Citrus* spp., *M. paniculata* y *S. glutinosa* (Kondo et al. 2015a).

Biología y morfología

En esta sección se listan las características morfológicas y datos biológicos de *D. citri* con base en estudios realizados en Corpoica CI Palmira y publicados en la Revista Colombiana de Entomologia (García et al. 2016).

Clave para diferenciar los estadios ninfales y el adulto de *Diaphorina citri*

Esta clave requiere la ayuda de un estereomicroscopio con micrómetro para poder medir el ancho y largo del espécimen que se va a identificar. Las medidas incluyen aquellas realizadas en el laboratorio de entomología, Corpoica, CI Palmira, y aquellas reportadas en la literatura científica.

1. Insecto con alas bien desarrolladas, moteadas ……..…….2
— Insecto con esbozos alares (alas en desarrollo) ……..…….....3

2. Abdomen puntiagudo (figura 12g, izquierda) ……..…..…adulto, hembra
— Abdomen en punta de romo (figura 12g, derecha) ....….....…...…adulto, macho

3. Especímenes entre 0,28 y 0,50 mm de longitud. Esbozos alares ausentes o muy poco desarrollados; antenas blanquecinas, sin tintes oscuros, segmentación de las antenas no evidente…….....……...…...…..…4
— Especímenes entre 0,74 y 1,66 mm de longitud. Esbozos alares más desarrollados; antenas con coloración oscura, especialmente en las puntas; algunos especímenes pequeños con antenas blanquecinas; segmentación de las antenas evidente…....5

4. Especímenes entre 0,28 y 0,35 mm de longitud. Antenas completamente blanquecinas. Esbozos alares no desarrollados (figura 12 b) ……..…..... Ninfa I (N1)
— Especímenes entre 0,44 y 0,50 mm de longitud. Antenas a veces con coloración oscura en la punta. Esbozos alares rudimentarios (figura 12c) ….....… Ninfa II (N2)

5. Ninfas entre 1,60 y 1,66 mm de longitud; botones alares bien desarrollados que se extienden en la parte anterior hasta el margen frontal de los ojos o los sobrepasan, y en la parte posterior hasta el cuarto segmento abdominal. Antenas con frecuencia oscuras en su totalidad a excepción del escapo (figura 12f).....Ninfa v (N5)
— Ninfas entre 0,74 y 1,52 mm de longitud; esbozos alares bien desarrollados pero no se extienden en la parte anterior hasta el margen frontal de los ojos ni hasta el cuarto segmento abdominal; antenas no tan oscuras, máximo hasta la mitad de la longitud de las antenas ……..…….....…… 6

6. Los especímenes miden entre 0,74 y 1,00 mm de longitud; base de los botones alares presente por debajo de los ojos, margen posterior de los esbozos alares no se extiende más allá del segundo segmento abdominal; antenas solo oscuras en la parte distal (figura 12d) ……..... Ninfa III (N3)
— Especímenes miden entre 1,01 y 1,52 mm de longitud; los esbozos alares se extienden en la parte anterior hasta tocar la parte posterior del ojo o un tercio de los ojos; en la parte posterior, hasta el tercer segmento abdominal; la parte media distal de las antenas es, con frecuencia, oscura (figura 12e) …… Ninfa IV (N4)

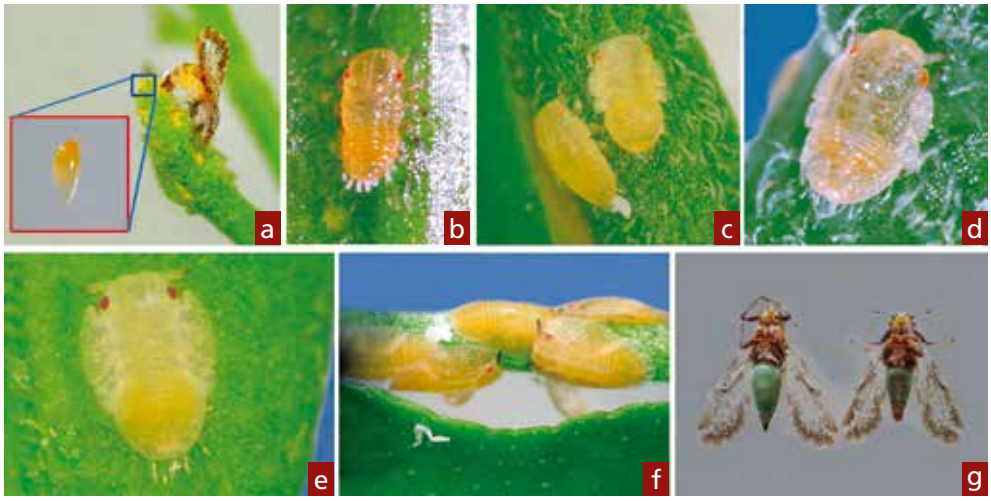


Figura 12. Morfología de los estados inmaduros y adulto de *Diaphorina citri*. a. Hembra ovipositando sobre un brote de mirto. En el recuadro aparece un huevo en primer plano; b. Ninfa I; c. Ninfa II; d. Ninfa III; e. Ninfa IV, nótese que los esbozos alares no sobrepasan los ojos; f. Ninfa V, nótese que los esbozos alares sobrepasan los ojos; g. Adultos de *D. citri*. Izquierda, hembra; derecha, macho; nótese las diferencias en el ápice del abdomen.
Fuente: García et al. (2016)

Características morfológicas de los estados de desarrollo de *Diaphorina citri*

Las características morfológicas de *D. citri* se estudiaron en el laboratorio de entomología de Corpoica, CI Palmira; se utilizó un esteromicroscopio con micrómetro debidamente calibrado. Las mediciones se basaron en como un rango de diez especímenes seleccionados al azar. Para cada uno de los estados, las medidas se comparan con datos reportados en la literatura.

Huevo

La hembra grávida de *D. citri* oviposita en brotes tiernos (figura 12a), en la base foliar y el envés de las hojas tiernas. Los huevos (figura 12a, recuadro) son de forma ovoide y tienen una prolongación alargada terminada en punta en el extremo que queda expuesto. Su coloración es amarilla cuando están recién ovipositados y va cambiando a naranja a medida que se acerca el momento de la eclosión; durante ese tiempo se hacen visibles dos puntos rojos que señalan la posición de los ojos de los embriones. Los huevos que no terminan su desarrollo se caracterizan por su apariencia deshidratada. El tamaño esta entre 0,11 y 0,13 (≈0,12) mm de ancho y entre 0,28 y 0,31 (≈0,30) mm de longitud, medidas que concuerdan con los resultados informados por Fonseca et al. (2007) y Tsai y Liu (2000).

Estadio ninfal I (N1)

Las ninfas se caracterizan por no tener esbozos alares (alas en formación). Son de color amarillo-naranja y tienen ojos rojos, compuestos; presentan antenas pequeñas y de coloración similar al resto del cuerpo (figura 12b). Se agrupan debajo de las hojas tiernas, donde se alimentan. Secretan abundante cera blanca de forma ondulada. Las N1 son móviles, miden de 0,24 a 0,31 mm de longitud y de 0,10 a 0,18 mm de ancho. Estas medidas concuerdan con las descritas para este instar por Tsai y Liu (2000), sin embargo, son menores que las obtenidas por Fonseca et al. (2007).

Estadio ninfal II (N2)

Se reconoce porque las ninfas tienen esbozos alares apenas en desarrollo. Las N2 son amarillo naranja, móviles, con ojos rojos, compuestos, y antenas totalmente blanquecinas o con coloración negra en la punta (figura 12c). Se agrupan en el envés de las hojas tiernas y al igual que las N1 secretan abundante cera blanca que adquiere

una forma ondulada. Pueden medir de 0,47 a 0,50 mm de longitud y de 0,27 a 0,30 mm de ancho, valores ligeramente superiores a los informados por Fonseca et al. (2007) y Tsai y Liu (2000) para este instar.

Estadio ninfal III (N3)

Las bases de los esbozos alares en las ninfas están presentes por debajo de los ojos y el margen posterior de ellos no se extiende más allá del segundo segmento abdominal. Las antenas se tornan negruzcas solo en la parte distal. Los ojos son compuestos y rojos (figura 12d). Secretan cera en menos cantidad que las N1 y N2; esta vez, adopta forma esférica. Las N3 se ubican en grupos en el envés de las hojas tiernas y en algunos casos migran hacia las bases foliares o a las ramas. Las N3 son muy móviles, miden de 0,95 a 1,00 mm de longitud y de 0,71 a 0,75 mm de ancho. Para este instar se observó que las medidas fueron ligeramente mayores a las medidas reportadas por Fonseca et al. (2007) y Tsai y Liu (2000).

Estadio ninfal IV (N4)

La N4 se reconoce por tener esbozos alares aún más desarrollados que los instares previos, que se extienden, en la parte anterior, hasta tocar la parte posterior del ojo o un tercio de los ojos, y en la base, hasta el tercer segmento abdominal. La parte media distal de las antenas es con frecuencia negruzca y la ninfa tiene ojos rojos, compuestos (figura 12e). Las N4 son bastante móviles; miden de 1,40 a 1,52 mm de longitud y de 1,09 a 1,13 mm de ancho, medidas superiores a las reportadas por Fonseca et al. (2007) y por Tsai y Liu (2000). Se ubican en grupos como medida de sobrevivencia y descienden de los brotes tiernos a las ramas más desarrolladas de la planta.

Estadio ninfal V (N5)

Las ninfas en este instar se caracterizan por ser móviles. Presentan esbozos alares bien desarrollados que se extienden, en la parte anterior, hasta el margen frontal de los ojos o los sobrepasan y, en la base, hasta el cuarto segmento abdominal. Las antenas con frecuencia son negruzcas en su totalidad a excepción del escapo; los ojos, compuestos, son rojos. Comúnmente, el abdomen es de color azul verdoso o amarillo naranja. Las N5 se agrupan en las ramas y ahí se quedan hasta la emergencia del adulto (figura 12f). Pueden medir de 1,61 a 1,66 mm de longitud y de 1,10 a 1,12 mm de ancho; estos valores son similares a los reportados por Fonseca et al. (2007) y Tsai y Liu (2000).

Adultos

Miden de 2,24 a 2,30 mm de longitud y de 0,61 a 0,65 mm de ancho y se reconocen por la posición de descanso que toman sobre el sustrato con el que forman un ángulo de 45 grados (figura 12a y 12g). Tienen alas moteadas de color castaño, ojos compuestos, rojos, y antenas pequeñas con la punta negra (figuras 12g y 13).



Figura 13. Tiempo de duración de los diferentes estados de desarrollo de *Diaphorina citri* sobre mirto *Murraya paniculata* en condiciones de casa de vidrio (temperatura máxima: 37,1±5,1 °C, temperatura mínima: 25,0±2,0 °C; humedad relativa máxima: 67,0±6,2 %; humedad relativa mínima: 39,5±10,9 %; 12:12 h luz:oscuridad, régimen natural de luz). Palmira, Valle del Cauca, Colombia.
Fuente: García et al. (2016).

El adulto recién emergido tiene una coloración blanquecina y con el transcurso de las horas cambia a marrón moteado, su color definitivo. Presenta dimorfismo sexual, caracterizado por diferencias en el ápice del abdomen; la hembra tiene el abdomen finalizado en punta fina y el del macho finaliza en punta roma (figura 12g).

Capacidad de vuelo de *Diaphorina citri*

Los vuelos de *D. citri* son normalmente cortos, de menos de 1 metro de distancia; vuela entre las ramas de una planta o entre plantas adyacentes. Sin embargo, en estudios realizados en Florida, EE. UU., se determinó que el psílido asiático de los cítricos, en el transcurso de un mes, vuela una distancia entre 30 y 100 metros (Hall y Hentz 2011).

Desarrollo desde huevo hasta adulto de *Diaphorina citri*

El tiempo de desarrollo desde huevo hasta adulto de *D. citri* fue de 15,41±0,49 días (figura 13). En la tabla 5 se resume la duración de cada estado de desarrollo de *D. citri*. Solo siete individuos llegaron al estadio de adulto, lo que representa un 6,86 % de la cohorte inicial (n=102 huevos).

Tabla 5. Duración de los estadios de desarrollo de *Diaphorina citri**

Estadio de desarrollo	N°	Duración de los estadios (días)		Supervivencia (%)	Mortalidad (%)
		Media±dem	Intervalo		
Huevo	102	3,62±0,80	De 2 a 5 días	78,43	21,56
Ninfa I estadio	80	3,12±1,10	De 1 a 6 días	18,62	81,37
Ninfa II estadio	19	1,52±0,50	1 a 2 días	11,76	88,23
Ninfa III estadio	12	2,67±0,47	2 a 3 días	11,76	88,23
Ninfa IV estadio	12	3,17±0,37	3 a 4 días	11,76	88,23
Ninfa V estadio	12	1,41±0,49	1 a 2 días	6,86	93,13
Adulto hembra	3	>64	--	2,95	100
Adulto macho	4	>64	--	3,92	100

*Condiciones: Casa de vidrio (temperatura máxima: 37,1±5,1 °C, temperatura mínima: 25,0±2,0 °C; humedad relativa máxima: 67,0±6,2 %; humedad relativa mínima: 39,5±10,9 %; 12:12 h Luz: oscuridad, régimen natural de luz). Mortalidad medida en forma acumulada para los estadios de desarrollo.
Fuente: García et al. (2016)

Los adultos vivieron más de 64 días en las condiciones establecidas en casa de vidrio. La relación de sexos fue 1:1. Debido a la cantidad mínima de individuos que llegaron a etapa adulta durante el ciclo de vida, se partió de un grupo inicial de 20 parejas a las cuales se les evaluó la longevidad y los parámetros ecológicos requeridos para los análisis de la tabla de vida. La longevidad entre hembras y machos de *D. citri* no fue significativamente diferente (Log-Rank χ^2=0,27 df=1, p<0,6031) en condiciones de casa de vidrio. El tiempo medio de supervivencia para las hembras fue de 48,25 días (95 % intervalo de confianza [IC] percentil 50: 35-59 días, n=12), y el tiempo medio de supervivencia para los machos fue de 50 días (IC del 95 % percentil 50: 41-60 días, n=12).

La duración del ciclo de vida de *D. citri* en condiciones de casa de vidrio concuerdan con lo observado por Fernández y Miranda (2005), quienes reportaron el tiempo de duración desde huevo hasta adulto entre 16 a 17 días a una temperatura de 25 °C. Por otra parte, Nava et al. (2007) encontraron que el tiempo de desarrollo de *D. citri* sobre *M. paniculata* es de 17,74 días, a una temperatura de 24 °C y una HR de 70±10 %. En estudios anteriores, Morales et al. (2010) reportaron diferencias en el ciclo de vida de *D. citri* según la planta hospedera: 15,2 (±2,8) días sobre lima, *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing, 17,4 (±2,1) días; sobre naranja, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, 18,8 (±2,8) días; sobre mandarina, *Citrus reticulata* Blanco, 13,6 (±1,2) días; sobre pomelo, *Citrus grandis* (L.) Osbeck y 15,8 (±2,8) días; sobre mirto, *M. paniculata*, en condiciones de laboratorio a una temperatura de 24,89±1,48 °C y humedad relativa de 64,89±4,95 %. Por otra parte, los resultados del presente trabajo coinciden con los de Tsai y Liu (2000) quienes estudiaron la biología de *D. citri* sobre *Citrus jambhiri* Lush, *C. aurantium* L., *C.* x *paradisi* Macfad. y *M. paniculata* en condiciones de laboratorio, con una temperatura de 25 °C, y obtuvieron resultados similares entre hospederos en cuanto a duración de ciclo de vida con un promedio de 17,2 días. Según los autores citados, la temperatura tiene un efecto significativo en la tasa de desarrollo, supervivencia, reproducción y longevidad de *D. citri*. De acuerdo con Catling (1970), el rango de temperatura adecuado para el desarrollo de *D. citri* es de 25 a 26 °C, lo que coincide con la temperatura en este estudio (=27±2 °C).

Parámetros poblacionales

Respecto a los parámetros poblacionales, se advirtió un periodo de preoviposición aproximado de dos días y luego se observaron posturas regulares hasta los 49 días con un pico de oviposición a los 35 días, lo cual coincide con el promedio de supervivencia de las hembras. Ellas presentaron posturas promedio de 237,6 huevos (rango entre 91 y 362 huevos) durante su ciclo reproductivo. Asimismo, se registró que no hubo contribución reproductiva de hembras mayores a 50 días (figura 14).

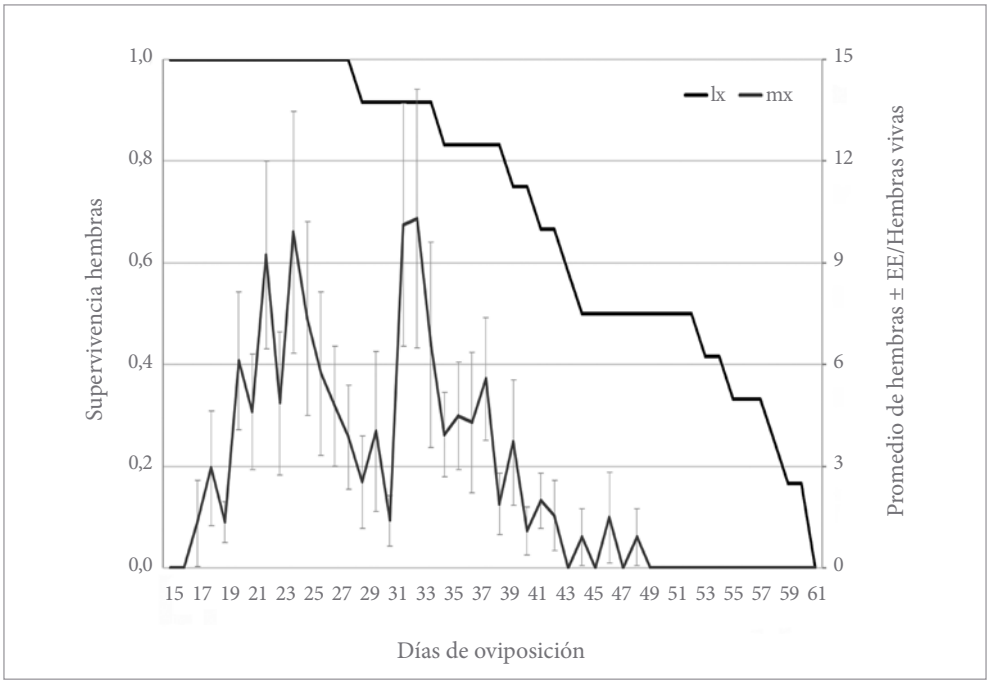


Figura 14. Curva de supervivencia (l_x) y fecundidad (m_x) de hembras de *Diaphorina citri*, en condiciones de casa de vidrio (temperatura máxima: 37,1±5,1 °C; temperatura mínima: 25,0±2,0 °C; humedad relativa máxima: 67,0±6,2 %; humedad relativa mínima: 39,5±10,9 %; 12: 12 h luz: oscuridad, régimen natural de luz).
Fuente: García et al. (2016)

Los estudios poblacionales mostraron que una hembra de *D. citri* es reemplazada por aproximadamente ocho hijas, lo cual supone un crecimiento constante de la población (Southwood 1978; Rabinovich 1978; 1980) (tasa reproductiva neta [*Ro*]=8,078) (tabla 6). En adición, la tasa intrínseca de crecimiento natural (r_m) fue de 0,087 (tabla 6), lo que indica que la población de *D. citri* puede crecer casi un 9 % en las condiciones

climáticas evaluadas. En cuanto al tiempo generacional (*T*), se estimó en 23 días (tabla 6), es decir, que desde que un huevo de *D. citri* es puesto, se requieren 23 días para que una hembra proveniente de esa generación empiece a ovipositar. Esto supondría que se podrían obtener unas 16 generaciones por año en las condiciones establecidas para este estudio. El tiempo de duplicación (*Dt*) fue de 7,86 días, lo que señala el periodo requerido para duplicar la población inicial según las condiciones descritas.

Tabla 6. Parámetros poblacionales de hembras de *Diaphorina citri* (n=12) criadas en condiciones de casa de vidrio*

Parámetro	Valor medio	95 % intervalo de confianza
Tasa reproductiva neta (Ro) (hembras)	8,078	5,92-10,23
Tiempo medio de generación (T) (días)	23,96	21,76-26,16
Tasa intrínseca de crecimiento (rm) (% *100)	0,087	0,071-0,103
Tiempo de doblaje (Dt) (días)	7,88	6,46-9,32

* Temperatura máxima: 37,1±5,1 °C; temperatura mínima: 25,0±2,0 °C; humedad relativa máxima: 67,0±6,2 %, humedad relativa mínima: 39,5±10,9 %; 12: 12 h Luz: Oscuridad, régimen natural de luz.
Fuente: García et al. (2016)

Los resultados obtenidos mediante el análisis de los parámetros ecológicos muestran que hay una mortalidad alta en el primer estadio ninfal, cercana al 81 %, y solo un 7 % de la población inicial llega a estado adulto. En términos de control de *D. citri*, se pueden pensar estrategias de manejo del primer estadio de desarrollo y, por lo tanto, las acciones se deben lograr rápidamente durante la primera semana de presencia de adultos en los cultivos, de acuerdo con la duración de los estadios de huevo y primer instar ninfal. Infortunadamente, los daños directos causados por *D. citri* no son considerados graves, pero adquiere una gran importancia por servir como vector del HLB, ya que un solo espécimen que sobreviva a las estrategias de manejo de la plaga supone un potencial portador de la enfermedad.

En promedio, una hembra puede tener 237 posturas de las cuales solo el 7 % llegaría a estado adulto, es decir la población sobreviviente sería de 17 adultos, todos potenciales transmisores de HLB. Por esta razón, un control racional mediante el uso de insecticidas sistémicos y de contacto sigue siendo importante para evitar la diseminación de la enfermedad. Para el uso de agentes de control biológico se deben tener en cuenta los periodos de carencia ya que estos suelen ser más susceptibles a estos productos que *D. citri*.

Estados ninfales preferidos por *Tamarixia radiata*

Numerosos autores han planteado que *T. radiata* es un parasitoide que prefiere principalmente ninfas del quinto instar para depositar sus huevos (Chien 1995; Chu y Chien 1991; Skelley y Hoy 2004), pero a pesar de esos postulados, Étienne et al. (2001) señalan que el parasitismo por *T. radiata* se puede llevar a cabo en ninfas del tercer al quinto instar.

Al tener en cuenta lo anterior, se recomienda iniciar las crías de *T. radiata* con plantas de *M. paniculata* infestadas con ninfas N3-N4 de *D. citri*, para lo cual se requiere comenzar la liberación de las hembras grávidas 10 a 12 días antes en plantas con brotes óptimos.

El conocimiento del ciclo biológico del psílido para el establecimiento de un período productivo constante de ninfas de tercer y cuarto instar es un eslabón indispensable para continuar con el proceso de reproducción masiva de *T. radiata* (Senasica 2014).







Capítulo VII

Procedimientos para la cría masiva de *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata*

Hugo César Arredondo Bernal
Yenifer Campos Patiño
Laura Isabel Colorado Herrera
Takumasa Kondo
Jorge Sánchez González

El establecimiento de un pie de cría de *D. citri* comienza con recolectas del insecto en zonas urbanas, jardines de traspatio o cercos vivos de *M. paniculata* que no estén tratados con plaguicidas. Los psílidos para el pie de cría también se pueden recolectar de otros hospederos de la familia Rutaceae, como la swinglea *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr., y varias especies de cítricos, *Citrus* spp., siempre y cuando no hayan sido tratados con plaguicidas, o por lo menos que hayan superado el periodo de carencia desde la última aplicación.

Los psílidos preferiblemente se recolectan en estado adulto para evitar la contaminación con hongos y parasitoides que atacan el estado ninfal y se liberan en plantas de *M. paniculata* por siete días para que las hembras grávidas ovipositen en los brotes tiernos. Después de la oviposición se remueven los psílidos adultos con un aspirador bucal para obtener ninfas de edad similar. En caso de recolectar ninfas de *D. citri* para iniciar un pie de cría, se recomienda dejar las ninfas colectadas en una jaula de cuarentena hasta la emergencia de adultos sanos.

En la figura 15 se explica el flujo de los procesos de cría masiva de *T. radiata*, teniendo como base la adecuación de la infraestructura necesaria, compuesta por invernaderos para la cría de los insectos y un cuarto oscuro de extracción del parasitoide mediante luz natural.

Debido a la escasez de plantas de mirto en el mercado nacional, el protocolo inicia con la recolecta y siembra de semillas de esta planta. También hay un componente esencial que consta del manejo agronómico del mirto, que incluye fertilización, podas, manejo de plagas, entre otros.

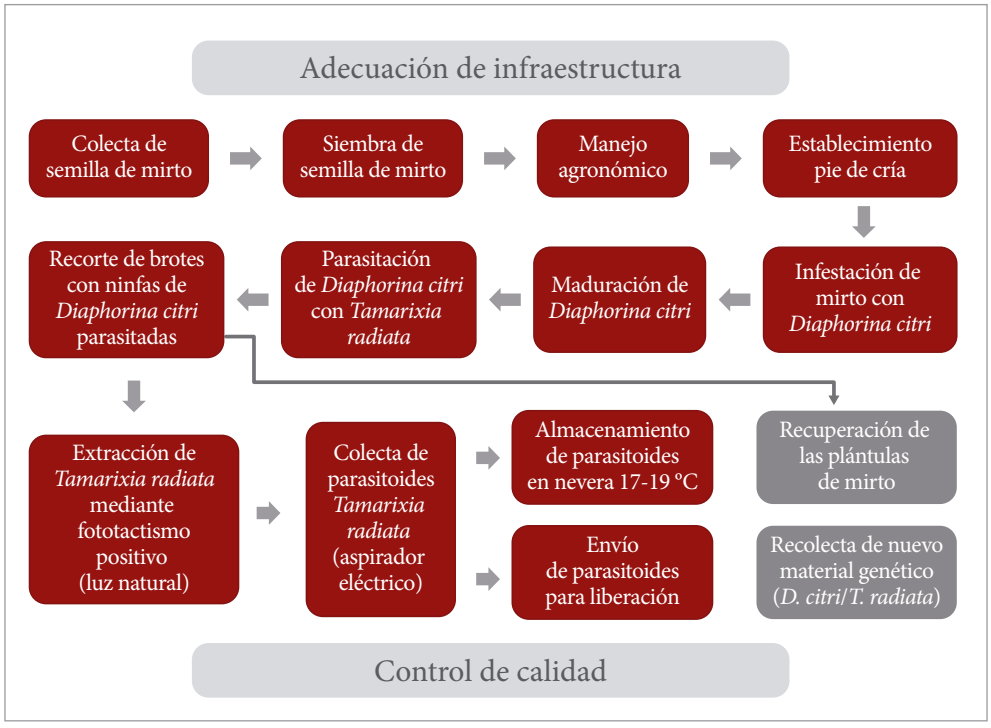


Figura 15. Diagrama de flujo del proceso de cría masiva de *Tamarixia radiata*.
Fuente: Elaboración propia

Después de la infestación de *M. paniculata* con *D. citri*, las ninfas se pasan a un cuarto de maduración (temperatura promedio de 25,1±1,6 °C y humedad relativa de 70,5±7,3 %), de ocho a diez días, para obtener ninfas de tercer a quinto instar, estados óptimos para la parasitación. Estas ninfas luego se pasan al área de parasitación con *T. radiata*; allí se cuenta el número de ninfas por jaula y se liberan los adultos del parasitoide con una relación de 1 a 5 (es decir, se libera un adulto de *T. radiata* por cada cinco ninfas de *D. citri*), y se suministra miel de abeja como alimentación suplementaria para alargar la longevidad de los parasitoides.

Pasados unos ocho a diez días de la parasitación, se realiza un corte de los brotes con las ninfas parasitadas y se transportan al cuarto de emergencia. Las avispitas parasitoides de *T. radiata* comienzan a emerger en el décimo día; los parasitoides que emergen son atraídos a la luz natural, que entra por una ventana única del cuarto oscuro, debido a su hábito de fototactismo positivo, y allí se recolectan con un aspirador eléctrico y se guardan en frascos de plástico de 50 ml con capacidad de 50 a 100 avispas.

En cada frasco de plástico se incluye un papel con líneas de miel de abeja pura como alimento. Los frascos se pueden enviar inmediatamente a los lugares de liberación, o se pueden almacenar en frío a una temperatura entre 17 y 19 °C hasta diez días o hasta que se requieran para liberaciones en campo o para mantener el pie de cría.

Las plantas recortadas en el lugar de parasitación se trasladan al cuarto de recuperación para ser reusadas cuando vuelvan a presentar brotación. Se recomienda la recolección de nuevos ejemplares de *D. citri* y *T. radiata* por lo menos una vez cada tres meses para evitar la degradación genética de los insectos por endogamia.

El control de calidad es un aspecto importante de la cría masiva de insectos, proceso en el que la observación es esencial. Hay algunos métodos que se pueden incorporar para mantener una producción de *T. radiata* de buena condición (véase subcapítulo *Control de calidad*).

Infraestructura

La infraestructura para la producción masiva de *T. radiata* y la cría de *D. citri* es esencial. Además de un invernadero, se requieren semilleros, jaulas de cría, elementos de colecta, entre otros.

Instalaciones

Para la cría de *T. radiata* se requiere una estructura tipo invernadero (figura 16a), cubierta con malla antiáfido y puertas de doble acceso (figura 16b) o cortinas de aire para evitar fugas o entradas de organismos. El invernadero provee un espacio cerrado con condiciones ambientales que favorecen el crecimiento de las plantas, el insecto hospedero y el parasitoide.



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 16. Instalación de producción masiva de *T. radiata* en el Centro de Investigación Palmira. a. Casa de vidrio con cobertura adicional con plástico agrofrío; b. Doble puerta.

La casa de vidrio de Corpoica tiene además una cobertura adicional con plástico agrofrío que ayuda a disminuir la temperatura en el interior; cuenta también con microaspersores y extractores de aire que se activan mediante sensores de temperatura. Se utiliza para las crias de *D. citri* y *T. radiata*. Tiene tres cubículos, que están divididos para los diferentes procesos: el primer cubículo se utiliza para el proceso de infestación; el segundo, para la maduración de las ninfas de *D. citri*; y, el tercero, para realizar el proceso de parasitación de *D. citri* con *T. radiata*.

Insumos para la elaboración de jaulas de madera con malla antiáfidos

Las jaulas de cría de *D. citri* se elaboran de forma manual. Cada tiene una dimensión de 70x70x70 cm. Los insumos necesarios para su construcción se listan a continuación:

- Bastidores de madera
- Grapas
- Grapadora industrial
- Cintas de velcro
- Tijeras
- Puntillas 1,5”
- Silicona líquida
- Malla

Sustrato para la cría de *Diaphorina citri* (plantas de mirto)

Previo a la colecta de *D. citri*, se realiza una poda a las plantas de mirto para estimular la brotación. Se podan con mucho cuidado, a una altura de 30 cm y cuando adquieren los brotes tiernos se inicia la recolecta de adultos de *D. citri* en el campo. Según Palomares-Pérez et al. (2015) los brotes óptimos para infestar son aquellos que miden entre 5 a 10 cm de longitud.

El tema de la siembra y mantenimiento de *Murraya paniculata* (L.), planta de mirto, se desarrolló con amplitud en el capítulo IV de este documento.

Elementos necesarios para la colecta de *Diaphorina citri*

Para la colecta de *D. citri* se requieren los elementos siguientes:

- Plantas de *M. paniculata*
- Nevera de poliestireno expandido (icopor) para el transporte de los insectos (figura 17a)
- Lupa común o de bolsillo con capacidad de magnificación de 40X (figura 17b y c).
- Tijeras podadoras (figura 17d)
- Aspirador bucal (figura 17e)
- Tarros de plástico grandes (figura 17f) o pequeños (figura 17g)
- Papel periódico (figura 17h)
- Gel refrigerante (figura 17i)



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 17. Elementos de colecta. a. Nevera de poliestireno expandido (icopor); b. Lupa; c. Lupa de bolsillo 40X; d. Tijera podadora; e. Aspirador bucal; f. Tarro de plástico con tapa de malla; g. Tarro de plástico pequeño para captura de adultos de *Diaphorina citri* o *Tamarixia radiata*; h. Papel periódico; i. Gel refrigerante.

Colecta de adultos de *Diaphorina citri* y establecimiento de un pie de cría

El pie de cría se establece a partir de material colectado en campo, en cercos vivos de *M. paniculata*, *Swinglea glutinosa* o en cultivos de *Citrus* spp. donde no se realicen aplicaciones de plaguicidas. Todo el material vegetal se transporta envuelto en papel periódico y dentro de la nevera refrigerada para garantizar la frescura.

De regreso a las instalaciones donde se realiza la producción masiva, los psílidos adultos se liberan en las jaulas con *M. paniculata* para iniciar el establecimiento del pie de cría.

Cría de *Diaphorina citri*

En jaulas de madera de 70x70x70 cm (medidas del protocolo mexicano) se colocan nueve plantas de *M. paniculata*, las cuales se podan aproximadamente una semana antes, para la obtención de brotes tiernos. En cada jaula se liberan 250 psílidos adultos de *D. citri*. Los insectos se dejan en las plantas por siete días, tiempo suficiente para que las hembras depositen los huevos en los brotes. Pasado este tiempo, los adultos se remueven con ayuda del aspirador bucal y se dejan las plantas solo con huevos y ninfas de los primeros instares.

Las plantas con suficientes huevos y ninfas del primer y segundo instar se trasladan al área de maduración, donde pasaran los siguientes cinco a siete días. Transcurrido ese tiempo, la mayoría de las ninfas deben estar entre el cuarto y el quinto instar, etapa de desarrollo ideal para ser parasitadas. Una vez que las ninfas lleguen a esos estadios, las plantas se trasladan al área de parasitación para su exposición a *T. radiata*.

Los ejemplares de *T. radiata* se deben colectar en campo, con el propósito de tener material adaptado a las condiciones ambientales de cada lugar. Los adultos colectados, así como los parasitoides que emergen de los brotes, deben ser examinados para corroborar que realmente se trata de *T. radiata*, para evitar la introducción de insectos no deseados que puedan contaminar el pie de cría.

Cría del parasitoide *Tamarixia radiata*

Es importante destacar que la obtención del parasitoide se realiza en una estructura protegida tipo invernadero, provista de trampas amarillas para capturar los psílidos que escapen.

En el invernadero, en cada una de las jaulas de cría, se colocan nueve plantas de *M. paniculata* infestadas con ninfas del psílido (N3-N5) a las que se introducen 50 adultos de *T. radiata* (figura 18a). En cada jaula se coloca miel pura en tiras de papel absorbente para prolongar la vida de los parasitoides (figura 18a). Según Senasica (2014), la humedad relativa mayor de 90,9 % influye negativamente sobre el parasitismo de *T. radiata*.



Fotos: Takumasa Kondo y Camila Yesenia García Córdoba

Figura 18. Proceso de parasitación. a. Jaula con *Tamarixia radiata* y ninfas de *Diaphorina citri* (recuadro) y tiras con miel; b. Ninfas del quinto instar parasitadas (momias) de *D. citri*; c. Pupa de *T. radiata* y meconio en la parte posterior de la ninfa de *D. citri*.

Corte de brotes con ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas

El tiempo adecuado para el corte de los brotes con ninfas parasitadas se determina mediante el monitoreo constante de las ninfas en la sala de parasitación. Por lo general, después del octavo o décimo día de ser expuestas las ninfas, se observa la presencia de meconios (excretas de la pupa de *T. radiata*) (figuras 18b y c). En ese momento se procede al corte de los brotes que contengan ninfas parasitadas, pero se trata de evitar hacer daño a la planta. Los brotes se colocan dentro de neveras de poliestireno expandido (icopor) para impedir su deshidratación y se trasportan a la sala de extracción de los parasitoides (figura 19a).



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 19. Proceso de extracción y almacenamiento de *Tamarixia radiata*. a. Área de extracción de *T. radiata*; b. Brotes tiernos de mirto con ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas con *T. radiata* en caja oscura; c. Colecta de parasitoides mediante un aspirador eléctrico, atraídos a la luz natural en cuarto oscuro; d. Nevecón industrial para conservación de los parasitoides.

Extracción y colecta del parasitoide *Tamarixia radiata*

Para la colecta del parasitoide se requiere una sala a 25±2 °C y 60 %±2 % HR con un fotoperiodo de 12:12 h, con un deshumidificador para controlar humedad del cuarto oscuro. Para la extracción se usan cajas de 50x50x50 cm, de color negro, con un orificio en cada cara de 10 cm de diámetro, cubierto con tela negra, para mantener una buena aireación y la oscuridad en el interior (figura 19b).

Cada caja tiene tres niveles en su interior, en los que se colocan los brotes con ninfas parasitadas (sobre papel periódico para la absorción de la humedad producida por los brotes y evitar un ambiente favorable para el desarrollo de hongos); se procura que no queden compactados. En el centro de los niveles uno y dos se perfora un orificio central para permitir el acceso de luz al nivel inferior. La colecta de parasitoides se puede realizar por medio de luz artificial o con ayuda de luz natural; en el caso de Corpoica solo se utiliza el segundo tipo debido a que los parasitoides tienen la capacidad de volar hasta la ventana de luz natural donde son recolectados. Sin embargo, en este protocolo se explican ambos procesos.

Recolecta de *Tamarixia radiata* por medio de luz natural

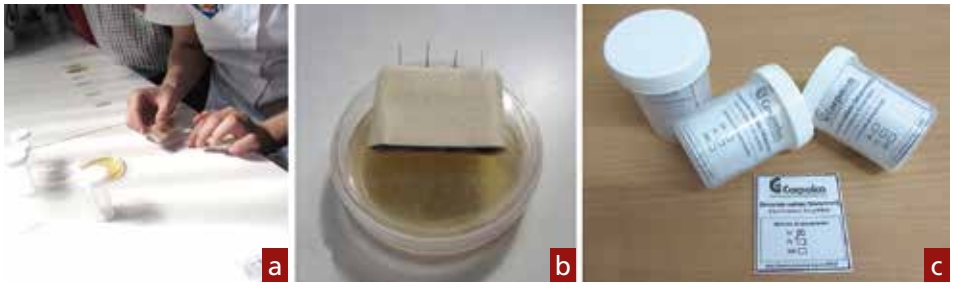
Esta técnica requiere una cámara con una ventana cerrada, para permitir la entrada de luz natural, lo cual posibilita que los insectos sean atraídos hacia ella (figura 19c). Está basada en la apertura de las cajas de extracción que contienen ninfas parasitadas para dejar escapar los parasitoides, que por medio del fototactismo positivo son atraídos hacia la luz de la ventana. Los insectos son aspirados con ayuda de un aspirador eléctrico (figura 19c) y contados posteriormente. Es recomendable colectar 50 parasitoides por tubo vial de 25 ml, 200 parasitoides en frascos de 100 ml, y 400 en frascos de 250 ml.

Recolecta de *Tamarixia radiata* por medio de luz artificial

En este caso, los parasitoides son colectados diariamente de los frascos con ayuda de un aspirador bucal conectado a una bomba de vacío con una presión de 15 cm Hg. El aspirador tiene ensamblado un tubo vial donde se capturan los parasitoides. Dentro del vial se coloca una etiqueta rotulada con la fecha de colecta y pequeñas gotas de miel para alimentar los parasitoides por el tiempo que se mantengan almacenados. Se realizan pequeños orificios en la tapa del tubo vial para permitir el flujo de oxígeno. Los parasitoides son aspirados y contados. Trascurridos diez días, la mayoría de los parasitoides emergen y se procede a la limpieza de las cajas; se retiran todos los brotes y el papel periódico. Posteriormente se aplica alcohol al 96 % y con una franela se limpia el interior.

Almacenamiento de parasitoides

Los parasitoides obtenidos en el cuarto de emergencia pueden ser liberados inmediatamente después de ser colectados en las áreas donde se requiera o se pueden almacenar a una temperatura de 17 a 19 °C durante cinco a diez días como máximo (figura 19d). Mientras se mantienen almacenados, se deben alimentar cada tres días. Para ello se introducen en el tubo vial que los contiene pequeñas etiquetas con finas gotas de miel (figura 20a y c).



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 20. Proceso de envase para envío de *Tamarixia radiata*. a. Etiqueta de información de parasitoides recolectados con cuatro líneas de miel pura; b. Dispositivo para la aplicación de miel pura sobre las etiquetas; c. Contenedores de plástico con etiquetas para el envío de parasitoides.

Empaque de parasitoides para liberación

Los adultos de *T. radiata* emergidos se colocan en cilindros de plástico (figura 21a) y son transportados en una nevera de poliestireno expandido (icopor) a los puntos de liberación (figura 21c). En la parte inferior del interior de la nevera, se colocan geles fríos envueltos en papel periódico para mantener fresca la nevera y evitar el contacto directo con los cilindros (figura 21b), ya que la humedad puede causar condensación de agua en la pared interior de ellos y los adultos parasitoides se pueden quedar pegados allí y morir. Posteriormente los cilindros debidamente etiquetados se colocan sobre los geles envueltos, se tapa la nevera y se verifica que quede bien sellada. Los cilindros deben quedar herméticos, pero también se debe considerar el intercambio gaseoso para evitar la condensación al interior del frasco, lo cual puede provocar la inmovilización o la muerte los parasitoides. Los individuos de *T. radiata* pueden estar almacenados en esas condiciones hasta por ocho días.



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 21. Envío y liberación en campo de *Tamarixia radiata*. a. Tarritos con parasitoides listos para envío; b. Nevera de poliestireno expandido (icopor) con refrigerante en la base, papel periódico y cinta con tarritos de parasitoides con *T. radiata*; c. Liberación de parasitoides en campo.

Liberación, evaluación en campo y control de calidad del parasitoide *Tamarixia radiata*

Las liberaciones de *T. radiata* benefician directa e indirectamente a decenas de productores. El principal objetivo del proceso es apoyar y reforzar una estrategia que permite tratar áreas urbanas, huertos orgánicos y huertos abandonados donde la aplicación de plaguicidas es limitada. Además, se hacen ante la necesidad de incrementar las poblaciones de parasitoides presentes de manera natural en las áreas urbanas y agroecosistemas citrícolas.

Está comprobado que los *T. radiata* incrementan el nivel de parasitismo natural en los puntos tratados (Senasica 2014). Por estas razones, se han realizado liberaciones aquellos reproducidos masivamente con el fin de recuperar las poblaciones abatidas por la aplicación de plaguicidas para el control de *D. citri*.

Según Senasica (2014), las liberaciones de *T. radiata* se deben realizar de acuerdo tres criterios básicos:

1. En los huertos donde se vaya a liberar, no se deben haber efectuado aplicaciones de plaguicidas en los dos meses anteriores al día escogido.
2. En el sitio de liberación deben estar presentes huevos o ninfas, preferiblemente las últimas de tercer estadio en adelante.
3. Los arboles de los huertos o de las áreas urbanas donde se vayan a liberar deben tener presencia de brotes jóvenes, lo que asegura la existencia de ninfas de *D. citri*.

En México, hasta 2014, las liberaciones fueron realizadas en áreas urbanas —en *Citrus* spp., y mirto— y en huertos productores de cítricos abandonados en los cuales no se aplicaban plaguicidas. De igual manera, en ese país, el uso del parasitoide en conjunto con otros medios biológicos como hongos entomopatógenos ha sido evaluado satisfactoriamente por Naranjo-Lázaro et al. (2013). Los autores indican que los hongos entomopatógenos *Isaria javanica* (Wize) A.H.S.Br. & G. Sm. con clave CNRCB-CHE 303, 305 y 307 y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, clave CNRCB-CHE, pertenecientes a la colección de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, más los coadyuvantes que se asperjan para el control de la misma plaga, no afectan de forma perjudicial a *T. radiata*, lo que posibilita su uso en un programa de control biológico compatible con el parasitoide.

Materiales, insumos y personal necesarios

Para la actividad de liberación de parasitoides en campo se requieren los siguientes materiales, insumos y personal:

- Mínimo dos personas (una para el manejo del GPS y el registro; otra para liberación de material en campo); ambos siempre se deberán mantener juntos en el recorrido por la huerta o área urbana
- Material biológico (parasitoide *T. radiata*)
- Dispositivo de geoposicionamiento global portátil (GPS)
- Formato para el registro de datos de liberación
- Libro de campo

- Lápiz
- Baterías o suministro de energía requerido para el dispositivo GPS portátil
- Nevera de poliestireno expandido (icopor)
- Gel refrigerante
- Termómetro
- Papel periódico

Los parasitoides deben estar en el lugar donde serán liberados un día antes de la fecha programada para la actividad. Debido a esto, es necesario trasladarlos por envío rápido, haciendo uso de los medios adecuados.

Durante el proceso de recepción de los ejemplares se deben seguir los pasos siguientes:

1. Localizar el predio, huerta o área urbana donde se realizará la liberación de los adultos de *T. radiata*.
2. Al recibir el paquete se deben verificar las condiciones del mismo, proporcionar ventilación y mantener a temperatura de 19 °C.
3. Es recomendable realizar la liberación en campo el mismo día en que se reciben los ejemplares o a más tardar un día después, siempre y cuando se pueda mantener el material biológico en las condiciones antes citadas.
4. Se debe elevar gradualmente la temperatura del material biológico a la del medio ambiente, para lo cual es preciso retirar el gel refrigerante de la nevera 10 a 20 minutos previos a la liberación.
5. El material biológico no se debe dejar sin refrigeración, directamente al sol o dentro de un vehículo cerrado o sin la supervisión de personal capacitado.
6. Los parasitoides se liberan cada 50 a 100 metros lineales, según el grado de infestación o la densidad de plantas hospederas presentes. Por ejemplo, si se observan más de 20 ninfas en promedio por brote/árbol, deberán liberarse 100 parasitoides cada 50 metros. Si, por el contrario, se observan 20 o menos ninfas en promedio por brote/árbol, se liberarán 100 individuos cada 100 metros.
7. En cada punto de liberación se destapan los contenedores bajo la sombra de una rama y se golpea ligeramente el frasco para ayudar la salida de los parasitoides.
8. Se debe realizar un registro de los datos de ubicación del lugar de liberación y las coordenadas geográficas marcadas en el GPS en un libro de campo.

Sandoval-Jiménez et al. (2013) y Senasica (2014) indican que la dispersión de *T. radiata* es de tipo agregada, con tendencia a desplazarse a favor del viento. Debido a ello, los autores citados recomiendan tomar en cuenta este factor previo a la liberación para mejorar la eficacia de la misma. Es importante evitar la liberación de los parasitoides en momentos en los que predominen ráfagas de viento o lluvias.

Muestreo para evaluación

En las áreas de liberación en zonas urbanas se realiza mediante muestreo. Se seleccionan diez plantas de cítricos o mirto por localidad, teniendo en cuenta una distancia de 50 a 100 metros entre las plantas hospederas. De cada planta evaluada se toman tres brotes tiernos al azar con un tamaño máximo de 10 cm de largo, con un mínimo de diez ninfas del tercer a quinto instar. Los brotes colectados en cada planta se colocan en frascos de plástico con tapa de rosca y capacidad de 250 ml o de ocho cm de altura con un diámetro de 5,5 cm.

Posteriormente se añade alcohol etílico al 70 % al frasco, se verifica que los brotes queden totalmente cubiertos y que las tapas queden bien selladas. Los frascos con los brotes se colocan en neveras de poliestireno expandido (icopor), selladas y aseguradas para evitar el derrame de alcohol. Cada muestra debe ser etiquetada con información sobre el sitio de colecta, tratamiento o testigo, número de muestra consecutiva, planta hospedera, fecha de muestreo y colector.

La muestra total por localidad o huerto estará conformada por diez frascos con tres brotes dentro (uno por cada planta muestreada). El sitio de ubicación de cada planta debe ser geoposicionado y registrado en libro de campo.

La evaluación en huertos abandonados u orgánicos se hace con la misma metodología y se toman al azar 30 brotes por hectárea. En ambos casos se determina el porcentaje de parasitismo según la fórmula que aparece en el subcapítulo *Porcentaje de parasitismo*.

Control de calidad

Dentro de las actividades de control de calidad en la cría de *T. radiata* se incluyen los parámetros de porcentaje de parasitismo, porcentaje de emergencia, proporción sexual y porcentaje de individuos deformes (Vizcarra-Valdez et al. 2013).

Porcentaje de parasitismo

El porcentaje de parasitismo se calcula mediante la toma del lote de producción de una muestra al azar de 30 brotes (de aproximadamente 5 a 10 cm de largo) de *M. paniculata* con ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*. Los brotes se observan con un estereoscopio (10-45X), y se contabilizan y registran las ninfas parasitadas y las no parasitadas de cada uno de los brotes. Aquellas parasitadas se reconocen por la presencia de *T. radiata* en cualquiera de los estados de desarrollo (huevo, larva, prepupa y pupa) o por el conteo de las momias. Los datos obtenidos se analizan con la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de parasitismo} = \left(\frac{\text{Ninfas parasitadas}}{\text{total ninfas}} \right) * 100$$

Porcentaje de emergencia

La tasa de emergencia se determina a partir de una muestra semanal del mismo material utilizado en la prueba porcentaje de parasitismo. Los brotes se colocan dentro de una caja de extracción durante diez días. Diariamente los parasitoides emergidos se colectan con la ayuda de un aspirador bucal entomológico y se contabilizan y registran. El índice de emergencia se obtiene con la fórmula siguiente:

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

Proporción sexual

La proporción de sexos se analiza semanalmente mediante toma de una muestra de 100 adultos de *T. radiata*, los cuales se observan con un estéreomicroscopio (10-45X). Los 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. Para determinar el sexo del parasitoide se observan las características morfológicas de las antenas (figura 3b y c). También, se puede observar que las hembras poseen el abdomen más grande, además de una mancha clara sobre las partes dorsal y ventral del abdomen, en comparación con el macho que carece de la mancha clara (Waterston 1922).

Una vez contabilizado y registrado el número total de machos y hembras observados, se procede a calcular la proporción de hembra a macho con la siguiente formula:

Proporción sexual=Hembras observadas/Machos observados

Porcentaje de individuos deformes

Para calcular el porcentaje de individuos deformes se toma una muestra de 100 individuos de la prueba de proporción sexual. Estos ejemplares se examinan con un estereoscopio (10-45X), se inspeccionan e identifican especímenes de *T. radiata* y se busca cualquier defecto o deformidad, por ejemplo, especímenes con apéndices (alas, antenas, patas) atrofiados o con malformaciones; coloración diferente de lo normal en el cuerpo, ojos o demás órganos, y tamaño irregular de los ejemplares. El número de individuos deformes es cuantificado y el porcentaje se calcula con la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de individuos deformes} = \left(\frac{\text{Individuos deformes}}{\text{Total de individuos observados}} \right) * 100$$





Capítulo VIII

Estimación de costos de producción de *Tamarixia radiata*

Denys Yohana Mora Herrrera
Rubilma Tarazona Velásquez
Takumasa Kondo

El análisis de costos del proceso de producción (cría masiva) de *Tamarixa radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) se realizó en un invernadero en el municipio de Palmira, departamento del Valle del Cauca, Colombia. Este análisis es una primera aproximación a la evaluación económica del proceso; sin embargo, está pendiente valorar monetariamente el beneficio de *T. radiata* como enemigo natural de *D. citri* y su efectividad para el control del HLB.

La estructura financiera empleada corresponde a una adaptación de la sugerida por Miranda (2012) para proyectos de inversión privada. A continuación, se presenta el presupuesto respectivo y costos monetarios para una producción promedio de *T. radiata* de 20.000 parasitoides por mes, equivalente a 240.000 parasitoides al año.

El presupuesto de inversiones incluye los desembolsos realizados en activos que por lo general duran más de un ciclo productivo y que son indispensables para poner en marcha el proceso; ese total global ascendió a $44.448.600 pesos colombianos, sujeto a la vida útil de los activos; anualmente se amortizan $10.540.100. Mientras que los costos de producción ascendieron a $99.381.000. El costo estimado por unidad emergente (individuo de *T. radiata*) fue de $458. Este es el primer estudio económico de producción masiva de *T. radiata* en Colombia.

Las inversiones hacen referencia a los desembolsos realizados para adquirir bienes o servicios indispensables para poner en marcha el proceso productivo; mientras que los costos corresponden a los egresos realizados en bienes o servicios que se consumen o transforman durante el ciclo productivo, como insumos, servicios públicos, mano de obra requerida para producir una unidad determinada (Miranda 2012).

Generalmente, aunque la estructura de costos se subdivide en las categorías de producción, ventas, financieros y administrativos, para el caso específico de la producción de *T. radiata* solo se contemplan los de producción, dado que aún no se está realizando comercialización.

Una vez diseñada la estructura de presupuesto de inversiones y costos se procedió a registrar en ella todas las compras y gastos ejecutados durante un año, comprendido entre diciembre de 2014 y diciembre de 2015. Se efectuó una verificación y complementación por medio de entrevista directa al operario responsable del proceso. Los cálculos corresponden a las actividades desarrolladas en un invernadero de la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica), Centro de Investigación Palmira. Se consideraron las cuatro fases del protocolo: 1) colecta y siembra de semillas de mirto, *Murraya paniculata*, la planta hospedera; 2) cría masiva del psílido asiático de los cítricos, *D. citri*, hospedero del ectoparasitoide *T. radiata*; 3) cría masiva de *T. radiata*, y 4) extracción y liberación de *T. radiata*.

Presupuesto de inversiones

En la tabla 7 se relaciona el presupuesto de inversiones, que incluye valor de la adecuación de la infraestructura (casa de vidrio o invernadero) y de elementos de irrigación, invertidos en Corpoica, CI Palmira. También los elementos utilizados en la fabricación de jaulas de madera artesanales, empleadas para la cría masiva de *D. citri* y *T. radiata*. Para la elaboración de las jaulas de cría se necesita un mínimo de personal necesario para las labores (dos personas se requirieron en el presente estudio), con una frecuencia mensual determinada (dedicación de 16 días al mes), para completar el número necesario de jaulas.

Tabla 7. Presupuesto de inversiones en pesos colombianos, año 2015

Descripción	Cantidad	Precio unitario	Total
Adecuación de infraestructura y materiales de riego			
Microaspersores	30	2.900	87.000
Manguera negra de polietileno 1x100 m	6	94.000	564.000
Nebulizador para riego	50	2.500	125.000
Adecuación de invernadero de vidrio	1	29.391.400	29.391.400
Subtotal			30.167.400
Adecuación de cuarto de emergencia (2,70 m x 3,6 m) (cuarto oscuro)			
Adecuación de cuarto de emergencia	1	2.000.000	2.000.000
Estante metálico	9	190.000	1.710.000
Subtotal			3.710.000
Contenedor de adultos para liberación (congelador panorámico vertical)	1	4.000.000	4.000.000
Total inversiones con vida útil de 5 años			**37.781.500**
Fabricación de 160 jaulas de cría (70x70x70 cm)			
Maderos (3 m cada uno)	480	3.000	1.440.000
Malla antiáfidos (rollo de 400 m^2)	2	120.000	240.000

(Continúa)

(Continuación tabla 7)

Descripción	Cantidad	Precio unitario	Total
Velcro (m) (2,10 x jaula)	336	1.000	336.000
Silicona (1 tarro = 280 ml) x 8 jaulas	20	6.500	130.000
Pistola para silicona	1	7.850	7.850
Grapadora industrial	3	111.200	333.500
Caja de ganchos para grapadora industrial (x 5.000 ganchos)	18	6.500	117.000
Bastidor de 3x3x3 m	60	7.540	452.400
Puntilla Tigre 2" x 500 g CC	10	2.400	24.360
Subtotal			3.079.700
Tijera de podar *bypass*	1	90.000	90.000
Total inversiones con vida útil de dos años y seis meses			**3.497.400**
82 cajas negras para emergencia de *Tamarixia radiata* (40 cm x 50 cm x 50 cm)			
Láminas de tríplex (1,22x2,44 m)	55	18.000	990.000
Madero de pino (3 m)	191	5.000	955.000
Vinilo de agua color negro (galón)	2	27.000	54.000
Brocha 3"	2	4.000	9.000
Puntilla (2"), caja de 250 g	6	2.300	13.800
Subtotal			**2.021.800**
328 bandejas para cajas de emergencia de *Tamarixia radiata*			
Madera para bastidor x 3m	**188**	**5.000**	**940.000**
Malla acerada x m	**82**	**3.200**	**262.400**
Malla metálica x m	**82**	**3.200**	**262.400**
Puntilla (1,5") caja 250 g	**6**	**1.800**	**10.800**
Subtotal			**1.475.600**
Total inversiones con vida útil de dos años			**3.169.700**

Fuente: Elaboración propia

Dentro de las inversiones también se considera la adecuación de un área de extracción de *T. radiata*, además de la elaboración artesanal de cajas negras y sus separadores. En la experiencia de Corpoica, CI Palmira, el operario elaboró un promedio de cinco cajas y diez bastidores por día; las cajas y los separadores se construyeron en tiempos diferentes.

Al considerar que las inversiones tienen una duración mayor a un ciclo productivo no se creyó pertinente asumir el valor total como único desembolso; de acuerdo con la vida útil de cada rubro se depreciaron las inversiones para que su valor anual sea incluido dentro del costo unitario de producción.

Según lo anterior y conforme a la información suministrada por el encargado de las instalaciones, se definió la vida útil de las inversiones así: el total de adecuación de infraestructura y materiales de riego, adecuación del cuarto de emergencia y el congelador panorámico fueron depreciados a cinco años; las cajas de emergencia junto a las bandejas se depreciaron a dos años y seis meses, y las jaulas y las tijeras podadoras a dos años.

Presupuesto de costos de producción

Contempla todos los insumos y mano de obra requeridos en las diferentes actividades necesarias para la producción masiva de ambos insectos (es decir el parasitoide y su huésped): desde las labores de campo, mano de obra, insumos para siembra y mantenimiento de 5.000 plantas de *M. paniculata*; cría de *D. citri*; colecta de material genético nuevo de *D. citri* y *T. radiata* en el campo; insumos para colecta e infestación de plantas con *D. citri*, fertilización, riego y manejo de plagas y enfermedades de *M. paniculata*, hasta la recolección de *T. radiata* en cuarto de emergencia (tabla 8).

Tabla 8. Presupuesto de costos de producción en pesos colombianos de 2015

Descripción	Cantidad	Precio unitario	Total
Manejo agronómico de las plantas de *Murraya paniculata*			
Fertilizantes			
Fosfacel 20-53-0 1 kg	4	18.000	72.000
Nitrato de potasio 50 kg	2	175.000	350.000
Campo Fert Nk x 50 kg	1	174.000	174.000
Sulfex Zinc Campofert x 1 kg	40	1.200	48.000
Urea	3	55.300	165.900
Sulfex Magnesio Campofert x 1 kg	20	1.400	28.000
Sulfex Hierro Campofert x 1 kg	10	3.000	$30.000
Sulfex Cobre Campofert x 20 kg	1	190.000	190.000
Borosol Soluble x 20 kg	2	12.000	24.000
Regulador fisiológico			
Hormonagro x 100 g	3	99.000	297.000
Rootex x 1 kg	2	53.500	107.000
Herramientas			
Polisombra (m^2)	52	4.060	211.100
Bolsas (unidad)	5.000	125.000	626.400
Lima triangular bastarda	6	5.900	35.600
Fungicida			
Ridomil x 375	1	18.400	18.400
Sustrato para cultivo de plantas			
Turba Pindstrup orange	3	121.900	365.900
Cascarilla x 50 kg	10	15.800	150.800
Arena fina x m^3	2	10.500	21.000
Insumos			
Jabón en polvo, bolsa 4 kg	5	28.200	141.000
Azadiractina (neem), 1 L	4	35.000	140.000

(Continúa)

(Continuación tabla 8)

Descripción	Cantidad	Precio unitario	Total
Aceites minerales 1 L	4	47.000	188.000
Diazinon granulado, 1 kg	4	45.750	183.000
Cipermetrina, 1 L	4	17.000	68.000
Previcur (propamocarb), 1 L	2	103.800	207.600
Captan o sulfato de cobre, 1 kg	4	39.000	156.000
Subtotal			**3.998.700**
Colecta del psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri*			
Aspirador artesanal			
Tarro plástico	6	300	1.800
Manguera transparente para nivel de agua (m)	3	700	2.100
Goteros para usar como boquillas	6	300	1.800
Subtotal			**5.700**
Proceso de emergencia de *Tamarixia radiata*			
Colecta de adultos			
Tarro plástico para colección de adultos	1.000	300	300.000
Aspiradores eléctricos	3	270.000	810.000
Guantes de nitrilo (50 unidades)	1	44.000	44.000
Tapabocas x caja (50 unidades)	1	10.400	10.400
Subtotal			**1.164.400**
Mano de obra			
Cuatro operarios	(4)	1.068.000	51.264.000
Profesional de apoyo	(1)	3.500.000	42.000.000
Energía (kW)	781	1.200	937.150
Agua (m^3)	10,6	1.150	11.800
Subtotal			94.212.950
Total			**99.381.000**

Fuente: Elaboración propia

Para los costos de producción de *T. radiata* se tuvieron en cuenta cantidades de insumos, materiales y mano de obra requeridos en cada uno de los procesos de producción. Se incluyó el pago de servicios públicos, agua y energía. Para el agua se calcularon los centímetros cúbicos (cm^3) consumidos en el mantenimiento de plantas según precio comercial del m^3 de agua de zona. En cuanto a la energía, el costo se refiere al consumo realizado por los equipos que requieren ponerse en funcionamiento para mantener la temperatura ambiente en 27 °C.

El costo de la mano de obra operativa implicada en la producción de *T. radiata* se calculó de acuerdo con el salario mínimo mensual legal vigente (smmlv) de Colombia de 2015 (Colombia 2014), incluyendo prestaciones sociales y parafiscales, es decir, $1.068.917 pesos colombianos. Se requieren cuatro operarios tiempo completo para el desarrollo de las actividades, entre ellas el corte de brotes infestados con ninfas de *D. citri* parasitadas con *T. radiata*, la colecta de adultos de *T. radiata* en el cuarto oscuro de extracción, y otras actividades como almacenamiento y envío de los parasitoides a los sitios donde estos se liberan. Además, se consideró el valor del salario del profesional que debe estar al frente del proceso.

A partir de la información técnica, se calculó un promedio mensual aproximado de unidades emergentes (individuos de *T. radiata*) con el fin de estimar el costo aproximado por unidad emergente. Esta estimación monetaria se calculó en peso colombiano (COP), a precios corrientes de 2015.

La colecta de *D. citri* se realiza con el fin de obtener nuevo material genético para renovar el pie de cría y evitar la degradación genética de las poblaciones en su reproducción, y la infestación de las plantas con los insectos. En el CI Palmira, la colecta de *D. citri* se efectúa con una frecuencia quincenal. Estas salidas se programan también para colectar nuevo material genético de *T. radiata* y otras actividades como el monitoreo de poblaciones, colecta de semillas de *M. paniculata* y estudio de otros enemigos naturales de *D. citri* que se puedan encontrar en el campo.

La mano de obra se considera un costo fijo; en este caso, equivale al salario del profesional de apoyo y a cuatro smmlv, con prestaciones sociales, que es el costo del salario de los cuatro operarios contratados con carácter permanente para que se ocupen de todas las labores requeridas en las distintas fases del proceso. No obstante, se considera pertinente conocer la distribución de tiempo que se le asigna a las actividades relacionadas con la colecta y procesamiento de las semillas y manejo agronómico de *M. paniculata*, de acuerdo con la frecuencia con que se realizan; el resumen se presenta en la tabla 9.

Tabla 9. Actividades requeridas para siembra y manejo agronómico de *Murraya paniculata*

Descripción	N.° de personas	Frecuencia (N.° días/mes)
Colecta de semilla	2	2
Transporte de semilla	2	2
Despulpe	2	2
Almacenamiento	2	2
Siembra	1	2
Mantenimiento	2	0,3

Fuente: Elaboración propia

Costo unitario promedio de *Tamarixia radiata*

Para deducir el costo de producir un individuo emergente de *T. radiata* se calculó el costo anual de las inversiones al dividir cada monto entre la vida útil previamente definida; al total de las inversiones se le sumaron los costos anuales de producción y el resultado se dividió por el total estimado de individuos producidos en un año (240.000 parasitoides). Los resultados se presentan en la tabla 10. En la primera columna se menciona la descripción del gasto; en la segunda, el valor total de la producción anual de individuos, y en la última, el valor de producción de un individuo.

Tabla 10. Costo unitario, promedio, de producción de *Tamarixia radiata* en pesos colombianos en el año 2015

Producción anual de 240.000 individuos	Valor/año	Valor/individuo
Valor anual de inversiones con vida útil de cinco años	7.556.300	31,5
Valor anual de inversiones con vida útil de dos años y seis meses	1.398.960	5,8
Valor anual de inversiones con vida útil de dos años	1.584.850	6,6
Costo total anual de producción	99.381.000	414,1
Valor total de producción de *T. radiata* (inversión + costos)	**109.921.000**	**458**

Fuente: Elaboración propia

Resumen global de los costos de producción masiva de *Tamarixia radiata* en Corpoica, CI Palmira

Es importante tener en cuenta que para la investigación desarrollada en Corpoica, CI Palmira solo se requirió la adecuación de infraestructura porque ya se contaba con la casa de vidrio y el cuarto de emergencia. No obstante, alguien que desee replicar este ejercicio y no cuente con esas construcciones deberá contemplar el egreso correspondiente. En la tabla 11 se presenta el resumen de costos calculados para la producción de *T. radiata* en Corpoica, CI Palmira.

Tabla 11. Inversiones y costos de producción de *Tamarixia radiata*, en pesos colombianos en el año 2015

Descripción	Total
Adecuación de infraestructura y materiales de riego	30.071.500
Adecuación de cuarto de emergencia (2,70 m x 3,6 m) (cuarto oscuro)	3.710.000
Contenedor de adultos para liberación (congelador panorámico vertical)	4.000.000
Total inversiones con vida útil de cinco años	37.781.500
82 cajas negras para emergencia de *Tamarixia radiata* (40 cm x 50 cm x 50 cm)	2.021.800
328 bandejas para cajas de emergencia de *Tamarixia radiata*	1.475.600
Total inversiones con vida útil de dos años y seis meses	3.497.400
Fabricación de 160 jaulas de cría (70x70x70 cm)	3.079.700
Tijera de podar bypass	90.000
Total inversiones con vida útil de dos años	3.169.700
Manejo agronómico de las plantas de *M. paniculata*	3.998.700
Colecta del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri*	5.700
Proceso de emergencia de *Tamarixia radiata*	1.164.400
Servicios públicos (agua y energía)	948.950
Mano de obra	93.264.000
Total costos anuales de producción	**109.921.000**

Fuente: Elaboración propia

Observaciones sobre los costos de producción

Dentro del costo total de producción anual de *T. radiata*, las inversiones, si se considera la depreciación anual de las mismas, representan el 9,6 %, mientras que el restante 90,4 % corresponde a los costos anuales de producción. El costo de producción unitario (=1 individuo de *T. radiata*), de ≈$458 de pesos colombianos, puede variar de acuerdo con el número de unidades emergentes, por eso es importante tener en cuenta que existen variables externas que pueden afectar el ciclo promedio de producción de *T. radiata* como la temperatura, el ciclo productivo por planta de *M. paniculata*, la densidad de población y velocidad de reproducción de *D. citri*.

Al revisar detalladamente los costos de producción es posible observar que el rubro de mayor peso es el de mano de obra (84,8 %). Se debe prestar atención especial a este ítem porque la mayor sensibilidad de los costos del proceso productivo se presenta ahí debido a que las prácticas desarrolladas son intensivas en mano de obra, dado que muchas deben ser desarrolladas artesanalmente. En ese sentido, si se desea disminuir los costos, la estrategia debería estar enfocada en reducir el tiempo requerido para efectuar las actividades de cada una de las fases de producción. Por otra parte, se observó que el manejo agronómico de *M. paniculata* representa el 3,6 % del costo total de producción.



Conclusiones

Diaphorina citri Kuwayama es el vector principal del HLB, enfermedad devastadora de los cítricos. Para generar opciones de control biológico para *D. citri*, se desarrolló un protocolo de cría masiva de su parasitoide principal, *Tamarixia radiata* (Waterston) en el Valle del Cauca, Colombia, tomando como modelo el protocolo desarrollado en México. La producción masiva de *T. radiata* se divide en cuatro fases: 1) producción y mantenimiento de mirto, *Murraya paniculata*, la planta hospedera; 2) cría masiva de *D. citri*, insecto hospedero de *T. radiata*; 3) cría masiva de *T. radiata*; y 4) recolección de *T. radiata*. El vivero de mirto incluye la colecta, despulpe y siembra de semillas, mantenimiento y manejo agronómico del cultivo. La producción de *D. citri* inicia con la colecta en campo de ninfas y adultos para el pie de cría. El proceso de parasitismo se realiza con ninfas del tercer a quinto instar de *D. citri*. El parasitoide *T. radiata* también se recoje en campo al colectar ninfas parasitadas que se reconocen por su coloración marrón o directamente adultos cuando estos se encuentran ovipositando. Como tiempo de parasitación, las ninfas se exponen a *T. radiata* durante siete días. Los parasitoides atraídos mediante fototaxismo positivo se colectan en frascos plásticos con un aspirador bucal o eléctrico; en la tapa se ponen unas gotas de miel para prolongar la vida del parasitoide. Los adultos de *T. radiata* se utilizan en liberaciones de campo para control de *D. citri* y para abastecer el pie de cría.

Se espera que este protocolo de cría masiva de *T. radiata* sirva como información básica para aquellos laboratorios que esten interesados en la producción de este parasitoide del psílido asiático de los cítricos en Colombia.



Los autores

Takumasa Kondo
Correo electrónico: tkondo@corpoica.org.co

Ingeniero agrónomo y magíster en International Agricultural Development de la Universidad de Agricultura de Tokio. Participó en el Curso de Intercambio en el Departamento de Entomología de la Michigan State University, Michigan, EE. UU.; PhD del Departamento de Entomología y Fitopatología, Auburn University, Alabama, EE. UU.; postdoctorado en el Departamento de Entomología, University of California, Davis. Es editor en jefe de la revista *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*; editor temático en el área de taxonomía y sistemática de las revistas *Neotropical Entomology*, *Journal of Insect Science*, *Revista Colombiana de Entomología*, y miembro del consejo editorial de la revista *International Journal of Insect Science*. Actualmente se desempeña como investigador senior en Corpoica CI Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Hugo César Arredondo Bernal

Licenciado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y MSc en Ciencias Agrícolas en el Colegio de Postgraduados, en la especialidad de Entomología y Acarología. Fue Secretario, Vicepresidente y Presidente de la Sociedad Mexicana de Control Biológico y es miembro del Sistema Nacional de Investigadores de México. Ha sido editor del Boletín del Organismo Internacional de Control Biológico (IOBC) y de la Sociedad Mexicana de Control Biológico. Secretario del IOBC, asesor del proyecto "Apoyo a los países miembros del Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria para el Control del Huanglongbing de los cítricos (TCP/RLA/3311)" de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura para América Central. Ha sido presidente del Panel de Control Biológico de la Organización Norteamericana de Protección de Plantas. En la actualidad, se desempeña como subdirector del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (Senasica), Tecomán, Colima, México.

Yenifer Campos Patiño

Ingeniera agrónoma de la Universidad del Tolima. Realizó su pasantía y tesis en el Grupo de Investigación de Mosca de la Fruta (GIMFRUT) de la misma universidad. En la actualidad se desempeña como profesional de apoyo a la investigación en Corpoica, CI Palmira, Valle del Cauca, Colombia, en dos proyectos de la agenda quinquenal de Corpoica, titulados: "Evaluación de entomopatógenos y productos químicos para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y estudios biológicos de *D. citri* y su enemigo natural principal *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)" y "Control biológico y químico de la cochinilla acanalada *Crypticerya multicicatrices* Kondo & Unruh (Hemiptera: Monophlebidae)".

Laura Isabel Colorado Herrera

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira; realizó su práctica profesional en la Universidad de Sao Paulo (USP), Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Piracicaba, Estado de Sao Paulo, Brasil. Ha trabajado en la producción masiva de insectos benéficos en la compañía Productos Biológicos Perkins Ltda. en Palmira, Valle del Cauca. Trabajó como profesional contratista de Corpoica en el proyecto "Evaluación de entomopatógenos y productos químicos para el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y estudios biológicos de *D. citri* y su enemigo natural principal *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae)".

Camila Yesenia García Córdoba

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira, Colombia. Trabajó como estudiante pasante en Corpoica, CI Palmira, en el proyecto: "Protocolo de cría de *Tamarixia radiata*, enemigo natural de *Diaphorina citri*, adaptado a condiciones de Colombia". Actualmente se desempeña como *freelance* en asistencia técnica agropecuaria, con enfasis en extensión rural, participación con organizaciones sociales campesinas, capacitación, acompañamiento tecnico y formulación de proyectos productivos enfocados en la soberanía alimentaria de los campesinos con el uso de alternativas de manejo integrado de cultivos biológicos.

Guillermo González F.

Ingeniero civil industrial de la Universidad de Chile y entomólogo autodidacta. Desde 1997, se ha especializado en la taxonomía de la familia Coccinellidae, en especial en los países de América del Sur. Ha publicado como autor o coautor más de cincuenta trabajos sobre diferentes géneros de Coccinellidae que, hasta el momento, han significado la descripción de 122 especies nuevas para la ciencia. En el año 2006 publicó en Internet la totalidad de la información recopilada en el sitio web Coccinellidae de Chile; posteriormente agregó información de Perú, Argentina, Brasil, Paraguay, Uruguay, Venezuela, Ecuador y Colombia. Hoy día incluye 1.502 páginas, que corresponden a 1.016 especies diferentes, del total de aproximadamente 1.700 presentes en América del Sur.

Yoan Camilo Guzmán Sarmiento

Ingeniero agrónomo de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. Fue estudiante pasante en Corpoica, CI Palmira, en el proyecto "Cría y avances sobre la biología de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y reconocimiento de sus enemigos naturales con énfasis en *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en el Valle del Cauca". En la actualidad realiza la maestría en el área de Entomología Agrícola y Ecología de Insectos en la Universidad Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil; sus estudios se enfocan principalmente en los temas de control biológico, ecología de insectos y la interacción insecto-microrganismo.

Mauricio Fernando Martínez

Ingeniero agrónomo y MSc en Ciencias Biológicas - línea de investigación en Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. En la actualidad se desempeña como investigador máster en Corpoica, CI Palmira, Valle del Cauca, Colombia, donde ha trabajado en las áreas de producción e investigación en especies frutícolas como cítricos, pitaya amarilla y aguacate. Su trabajo ha estado orientado a la generación de bases tecnológicas para el aseguramiento de calidad genética, fisiológica y fitosanitaria de material de propagación en frutales, donde se articulan las áreas de biotecnología en caracterización de recursos fitogenéticos y estandarización de técnicas de diagnóstico de enfermedades con la

producción de material vegetal en condiciones protegidas de casas de malla e invernaderos. Ha participado en proyectos de mejoramiento de cítricos, en la evaluación de materiales promisorios como parte de la estrategia para aumentar la oferta varietal en Colombia.

Denys Yohana Mora Herrrera

Economista de la Universidad del Tolima y MSc en Economía de la Universidade Estadual de Maringá, Estado de Paraná, Brasil. Estudiante de doctorado en Ciencias Ambientales, Universidad del Valle. En la actualidad se desempeña como investigadora máster en Corpoica, CI Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Yaneth Patricia Ramos Villafañe

Ingeniera agrónoma de la Universidad Nacional de Colombia. Trabajó como profesional de apoyo dentro del proyecto: "Protocolo de cría de *Tamarixia radiata*, enemigo natural de *Diaphorina citri*, adaptado a condiciones de Colombia", en Corpoica, CI Palmira. Asesoró en el control de calidad en la producción de parasitoides y depredadores a la compañía Productos Biológicos Perkins Ltda. En la actualidad se desempeña como profesional de apoyo a la investigación en Corpoica, CI Palmira, Valle del Cauca, Colombia.

Jorge Sánchez González

Licenciado en Medicina Veterinaria y Zootecnia. En la actualidad se desempeña como jefe del Departamento de Insectos Entomófagos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Servicio nacional de sanidad, inocuidad y calidad agroalimentaria (Senasica), Tecomán, Colima, México.

Paola Andrea Sotelo Cardona

Bióloga de la Universidad del Valle, MSc en Ciencias Agrarias-Fitomejoramiento de la Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira y PhD del Departamento de Entomología, Kansas State University. Hizo su posdoctorado en el área de entomología aplicada en el Instituto Federal Suizo de Tecnología (ETH-Zurich). En la actualidad se desempeña como Investigador PhD en Corpoica, CI Obonuco, Nariño, Colombia.

Rubilma Tarazona Velásquez

Economista de la Universidad Industrial de Santander (UIS). Cuenta con experiencia en la identificación y la zonificación de zonas de reservas naturales, caracterizaciones económicas, sociales y culturales de santuario de fauna y flora. Ha trabajado en la elaboración de la estructura financiera para implementación del Sistema Departamental de Áreas Protegidas (SIDAP), para el departamento de Santander. En la actualidad se desempeña como profesional de apoyo a la investigación en Corpoica, CI Palmira, Valle del Cauca, Colombia.



Referencias

Ángel JE, Hernández EG, Herrera NA, Gómez LY, Castro AP, Sepúlveda AM, Ebratt EE. 2014. *Citrus* huanglongbing: validation of Real-Time PCR (qPCR) for the detection of *Candidatus* Liberibacter asiaticus and *Candidatus* Liberibacter americanus in Colombia. Agron Colomb. 32(3):377-389.

Aranzazu M, Arizpe D. 2008. Manual de propagación de árboles y arbustos de ribera. Una ayuda para la restauración de riberas en la región mediterránea. Valencia, España: Generalitat Valenciana.

Arias-Ortega PL, Restrepo-García AM, Soto-Giraldo A. 2016. Primer registro de *Diaphorencyrtus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) en Colombia. Bol Cient Mus His Nat. 20(1):157-165.

Bewley JD, Black M. 1994. Seeds. Physiology of development and germination. 2ª ed. Nueva York, Londres: Plenum Press.

Bhattacharjee SK. 2000. Hand book of aromatic plants. Jaipur, India: Pointer.

Bové JM. 2006. Huanglongbing. A destructive, newly-emerging, century-old disease of *citrus*. J Plant Pathol. 88(1):7-37.

Burgos JM, Martínez C, Cardozo C, Jaramillo A, Gómez CO. 2011. Evaluación de sustratos para la producción de plántulas de limón Volkameriana (*Citrus volkameriana* Ten. Y Pasq.) en dos ambientes de casas de malla antipulgón. Revista Regional Novedades Técnicas. 12(17):8-17.

Caicedo A, Carmen H, Dávila GA, Rivera JP, Ramírez J. 2006. Prácticas de establecimiento y manejo de plantaciones de cítricos tecnificados. Boletín Técnico. 29:1-54.

Casado CM, Gutiérrez YI, Rodríguez E. 2011. Acercamiento al género Murraya (Rutaceae) y a la especie *Murraya paniculata* (L.) Jack. Rev Cubana Plant Med. 16(4):408-418.

Catling HD. 1970. Distribution of psyllid vectors of *citrus* greening disease, with notes on the biology and bionomics of *Diaphorina citri*. Plant Prot Bull. 18(1):8-15.

Cermeli M, Morales P, Perozo J, Godoy F. 2007. Distribución del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera, Psyllidae) y presencia de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera, Eulophidae) en Venezuela. Entomotrópica. 22(3):181-184.

Chien CC. 1995. The role of parasitoids in the pest management of *citrus* psyllid. En: Kiritani K, Su HJ, Chu YI, editores. [ARI] Agricultural Research Institute Proceedings of the Symposium on Research and Development of *Citrus* in Taiwan. Taichung, Taiwan: ARI. pp. 245-261.

Chu YI, Chien CC. 1991. Utilization of natural enemies to control of psyllid vectors transmitting *citrus* greening. En: Kiritani K, Su HJ, Chu YI, editores. Proceedings Integrated control of plant virus diseases. Taipei, Taiwan: Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region. pp. 135-145.

Colombia, Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución No. 00002390, Por la cual se declara el estado de emergencia fitosanitaria en el territorio nacional por la presencia de adultos de *Diaphorina citri* infectados con la bacteria de la enfermedad del HLB de los cítricos. Bogotá, Colombia: Diario Oficial, 11 de diciembre de 2015.

Colombia, Ministerio del Trabajo. Decreto 2731, Por el cual se fija el salario mínimo legal. Bogotá, Colombia. Diario Oficial, 30 de diciembre de 2014. [consultado 2015 diciembre]. http://actualicese.com/normatividad/2014/12/30/decreto-2731-de-30-12-2014-salario-minimo-2015/.

Costa Lima AM. 1942. Homopteros. Insetos do Brazil. Tomo 3. Rio de Janeiro, Brasil: Escuela Nacional de Agronomía, Ministerio de Agricultura.

Damsteegt VD, Postnikova EN, Stone AL, Kuhlmann M, Wilson C, Sechler A, Schaad NW, Brlansky RH, Schneider WL. 2010. *Murraya paniculata* and related species as potential hosts and inoculum reservoirs of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus', causal agent of huanglongbing. Plant Dis. 94(5):528-533.

[DANE] Departamento Administrativo Nacional de Estadística. 2010. Encuesta Nacional Agropecuaria (ENA). Bogota: DANE.

Ebratt-Ravelo EE, Rubio-González LT, Costa VA, Zambrano-Gómez EM, Castro-Ávila AP, Santamaría-Galindo MY. 2011a. Primer registro de *Tamarixia radiata* (Waterston 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) en Colombia. Rev Fac Nal Agr Medellín. 64(2):6141-6146.

Ebratt-Ravelo EE, Rubio-González LT, Costa VA, Castro-Ávila AP, Zambrano-Gómez EM, Ángel-Díaz JE. 2011b. *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1907) and *Tamarixia radiata* (Waterston 1922) in *citrus* crops of Cundinamarca, Colombia. Agron Colomb. 29(3):487-493.

Étienne J, Aubert B. 1980. Biological control of psyllid vectors of greening disease on Reunion island. En: Calavan EC, Garnsey SM, Timmer LW, editores. Proceedings of the 8th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside, EE. UU.: University of California Press. pp. 118-121.

Étienne J, Quilici S, Marival D, Franck A. 2001. Biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Guadeloupe by imported *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). Fruits. 56(5):307-315.

Ferdousi A, Rahman O, Hassan A. 2014. Seed germination behaviour of six medicinal plants from Bangladesh. Bangladesh J Plant Taxon 21(1):71-76.

Fernández M, Miranda I. 2005. Comportamiento de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Parte III: Relación entre el ciclo de vida y el brote vegetativo foliar. Rev Prot Veg. 20(3):161-164.

Fonseca O, Valera N, Vásquez C. 2007. Registro y ciclo de vida de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en tres hospederos en el estado Lara, Venezuela. Entomotrópica. 22(3):145-152.

García Y, Ramos P, Sotelo PA, Kondo T. 2016. Biología de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) bajo condiciones de invernadero en Palmira, Colombia. Rev Col Entomol. 42(1):36-42.

González-Cabrera J, Contreras-Bermúdez Y, Sánchez-González JA. 2016a. Reuso óptimo de *Murraya paniculata* para la producción masiva de *Diaphorina citri* y su parasitoide *Tamarixia radiata*. Southwest Entomol. 41(2):533-540.

González-Cabrera J, Contreras-Bermúdez Y, Sánchez-González JA, Arredondo-Bernal HC. 2016b. Conservación temporal y germinación de semilla de *Murraya paniculata* como hospedera para la cría masiva de *Diaphorina citri* y su parasitoide *Tamarixia radiata*. Southwest Entomol. 41(4):1067-1076.

González G. 2006. Los Coccinellidae de Chile. *Psyllobora picta* (Germain, 1854). [consultado 2016 ene]. http://www.coccinellidae.cl/paginasWebChile/PaginasOriginal/psylloborapicta.php.

González G. 2008. Lista y distribución geográfica de especies de Coccinellidae (Insecta: Coleoptera) presentes en Chile. Bol Mus Nac Hist Nat Santiago de Chile. 57:77-107.

Gottwald TR, Aubert B, Xue-Yuan Z. 1989. Preliminary analysis of citrus greening (Huanglungbin) epidemics in the People's Republic of China and French Reunion Island. Phytopathology. 79(6):687-693.

Halbert SE, Manjunath KL. 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.

Halbert SE, Núñez CA. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. Fla Entomol. 87(3):401-402.

Hall DG, Hentz MG. 2011. Seasonal flight activity by the Asian citrus psyllid in east central Florida. Entomol Exp Appl. 139(1):75-85.

Hall DG, Richardson ML, Ammar E, Halbert SE. 2012. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, vector of citrus Huanglongbing disease. Entomol Exp Appl. 146(2):207-223.

Hayat M, Shahi MH. 2004. Taxonomic notes on Indian Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) - 1. On the types of some Tetrastichinae. Orient Insects. 38:303-314.

Hernández-Fuentes LM, Urías-López MA, Gómez-Jaimes R, López-Arroyo JI, Velázquez-Monreal JJ, Orozco-Santos M. 2014. El Huanglongbing y su vector *Diaphorina citri* en limón persa en Nayarit: Recomendaciones para su manejo. Libro Técnico 3. Santiago Ixcuintla, México: [INIFAP] Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional Pacífico Centro, Campo Experimental Santiago Ixcuintla.

Hoddle MS, Hoddle CD, Triapitsyn SV, Khan SZ, Arif MJ. 2014. How many primary parasitoid species attack nymphs of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in Punjab, Pakistan? Fla Entomol. 97(4):1825-1828.

Hong TD, Ellis RH. 1996. Protocolo para determinar el comportamiento de las semillas en almacenamiento. Boletín Técnico IPGRI. 1:1-85.

Hoy MA, Nguyen R, Jeyprakash A. c2006. Classical biological control of Asian citrus psyllid in Florida. Florida IPM. [consultado 2016 ene]. http://ipm.ifas.ufl.edu/Agricultural_IPM/psyllid.shtml.

Hussain MA, Nath D. 1927. The citrus psylla (*Diaphorina citri* Kuw.) [Psyllidae: Homoptera]. Memoirs of the Department of Agriculture in India. Entomology Series. 10:5-27.

[ICA] Instituto Colombiano Agropecuario. 2010. Situación actual de HLB (Huanglonbing) y su vector el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) en Colombia. Boletín Epidemiológico. Bogotá D.C.: ICA.

[ISTA] International Seed Testing Association. 2004. International rules for seed testing association. Zürich, Suiza: ISTA.

Jaramillo A, Martínez M, Cardozo C, Burgos J. 2012. Determinación de condiciones controladas de almacenamiento seguro para semillas de portainjertos de lima ácida 'Tahití'. Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria. 13(2):151-158.

Joaquim D, Zaragosa AS. 1997. Producción de plantas de vivero de cítricos en condiciones controladas. Invernaderos, sustratos y contenedores [tesis de maestría] [Valencia, España]: Universidad Politécnica de Valencia.

Keremane ML, Ramadugu C, Castaneda A, Diaz JE, Peñaranda EA, Chen J, Duan YP, Halbert SE, Lee RF. 2015. Report of *Candidatus* Liberibacter caribbeanus, a new citrus-and psyllid-associated Liberibacter from Colombia, South America. The American Phytopathological Society. [2016 dic 11]. http://www.apsnet.org/meetings/Documents/2015_meeting_abstracts/aps2015abO253.htm

Khan AA, Qureshi JA, Afzal M, Stansly PA. 2016. Two-spotted ladybeetle *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae): A commercially available predator to control Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Plos One. [consultado 2016 dic 11] 11(9):e0162843. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0162843. doi: 10.1371/journal.pone.0162843.

King W. 2012. Dispersión de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en el departamento del Tolima (Colombia). Revista Tumbaga. 7:51-60.

Kondo T, Quintero EM, Campuzano M, Wyckhuys KAG, Heraty J. 2012. First report of *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in the department of Valle del Cauca, Colombia. Bol Mus Entomol Univ Valle. 13(1):48-51.

Kondo T, Simbaqueba-Cortés R. 2014. *Sarucallis kahawaluokalani* (Kirkaldy) (Hemiptera: Aphididae), a new invasive aphid on San Andres island and mainland Colombia, with notes on other recent invasive species. Insecta Mundi. 0362:1-10.

Kondo T, Palacino-Rodríguez F, Peña-Cuellar RD. 2015a. Report of *Erpetogomphus sabaleticus* Williamson, 1918 (Odonata: Gomphidae) feeding on *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Bol Mus Entomol Univ Valle. 16(1):17-26.

Kondo T, González G, Tauber C, Guzmán YC, Vinasco AF, Forero D. 2015b. A checklist of natural enemies of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) in the department of Valle del Cauca, Colombia and the World. Insecta Mundi. 0457:1-14.

Kondo T, Colorado LI, Campos Y, Arcila A, Sotelo P. 2016. *Wasmannia auropunctata* (Roger) (Hym.: Formicidae), pequeña pero voraz depredador de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hem.: Liviidae). En: [Socolen] Sociedad Colombiana de Entomología. Memorias de XXXVIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Manizales, Colombia: Socolen. pp. 101.

Laflèche D, Bové JM. 1970. Structures de type mycoplasme dans les feuilles d'orangers atteints de la maladie du Greening. Compt Rend Acad Sci, Paris. 270:1915-1917.

Landis TD. 2004. Nutrientes minerales y fertilización. En: Landis TD, Tinus RW, McDonald SE, Barnett JP, editores. Manual de viveros para la producción de especies forestales en contenedor. Vol 4. Portland, EE. UU.: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. pp. 1-67.

LaSalle J. 1994. North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). J Nat Hist. 28(1):109-236.

Lizondo MJ, Gastaminza G, Costa VA, Augier L, Gómez ML, Willink E, Parra JRP. 2007. Records of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Northwestern Argentina. Rev Ind Agríc Tucumán. 84(1):21-22.

Lomellí JR, Rodríguez E, Valdez JM, Ortega LD. 2010. Géneros de Coccinellidae asociados a *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en México. En: López JI, González VW, compiladores. Resúmenes del 1er Simposio Nacional sobre Investigacion para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Monterrey, México: [INIFAP] Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. pp. 64-77.

López JI, González A, Reyes MA, Rodríguez R, Lozano M, Jasso J, Cortez E, Loera J. 2010. Avances de investigación para el control biológico de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psillidae) en la citricultura de México. En: Coria VM, Lara MBN, Orozco G, Muñoz HJ, Sánchez R, editores. Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Uruapan, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico. pp. 87-98.

Luis M, Peña M, Collazo C, Ramos P, Llauger R. 2010. Enfermedades bacterianas y fungosas en viveros de cítricos: características y control. En: [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, InterAmerican Citrus NETwork, Grupo Empresarial Frutícola (GEF), Instituto de Fruticultura Tropical (IIFT). Viveros de cítricos en el contexto fitosanitario actual. 1ed. Havana, Cuba: IIFT. pp. 101-126.

Mann RS, Stelinski LL. 2010. An Asian citrus psyllid parasitoid, *Tamarixia radiata* (Waterston) (Insecta: Hymenoptera: Eulophidae). EENY-475. Featured Creatures. [consultado 2015 oct]. http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures/beneficial/wasps/tamarixia_radiata.htm.

Mead FW, Fasulo TR. s. f. Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae). EENY-033. IFAS Extension University of Florida. [consultado 2015 oct]. http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN16000.pdf.

Mellín-Rosas MA, Sánchez-González JA, Cruz-Ávalos AM, Montesinos-Matías R, Arredondo-Bernal HC. 2016. Patogenicidad de cepas de hongos entomopatógenos sobre *Diaphorina citri* Kuwayama en condiciones de laboratorio. Southwest Entomol. 41(3):791-800.

Michaud JP. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. Biol Control. 29(2):260-269.

Miranda JJ. 2012. Gestión de proyectos: evaluación financiera, económica social, ambiental. 7ª ed. Bogotá, Colombia: MM editores.

Missouri Botanical Garden. c2016a. w³TROPICOS. [consultado 2016 enero] http://www.tropicos.org/Name/28100030.

Missouri Botanical Garden. c2016b. w³TROPICOS. [consultado 2016 enero] http://www.tropicos.org/Name/28100029.

Morales VP, Fonseca O, Noguera Y, Cabaña W, Ramos F, Escalona E, Rosales C, Cermeli M, Salas B, Sandoval E. 2010. Evaluación del ciclo de vida del psílido asiático de los cítricos en cinco plantas hospederas. Agron Trop. 60(3):283-286.

Muñoz ZP. 2007. Comparación del sustrato de fibra de coco con los sustratos de corteza de pino compostada, perlita y vermiculita en la producción de plantas de *Eucalyptus globulus* (Labill) [trabajo de grado]. [Santiago de Chile, Chile]: Universidad Austral de Chile.

Naranjo-Lázaro JM, Mellín-Rosas MA, González-Padilla VD, Arredondo-Bernal HC. 2013. Susceptibilidad de adultos de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) a hongos entomopatógenos y coadyuvantes en laboratorio. Senasica; [consultado 2016 enero]. http://publico.senasica.gob.mx/?doc=26162.

Nava DE, Torres MLG, Rodrigues MDL, Bento JMS, Parra JRP. 2007. Biology of *Diaphorina citri* (Hem: Psyllidae) on different hosts and at different temperatures. J Appl Entomol. 131(9-10):709-715.

Navarrete B, McAuslane H, Deyrup M, Peña JE. 2013. Ants (Hymenoptera: Formicidae) associated with *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and their role in its biological control. Fla Entomol. 96(2):590-597.

Noyes JS. 2011. Universal Chalcidoidea Database website. [consultado 2015 octubre]. http://www.nhm.ac.uk/our-science/data/chalcidoids/.

Palomares-Pérez M, Córdoba-Urtiz EG, Arredondo-Bernal HC. 2015. Producción de *Tamarixia radiata* Waterson (Hymenoptera: Eulophidae) estimulando la brotación de *Murraya paniculata* (L.) Jack. Rev Mex Cienc Agric. (11):2091-2098.

Postali-Parra JR, Rodrigues-Alves G, Ferreira-Diniz AJ, Mendes-Vieira J. 2016. *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) x *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae): mass rearing and potential use of the parasitoid in Brazil. J Integr Pest Manag. 7(1):1-10.

Prinsloo GL. 1980. Annotated records of economically important Chalcidoidea: (Hymenoptera) from South Africa. I. Phytophylactica 12:159-163.

Rabinovich JE. 1978. Ecología de las poblaciones animales. Washington: Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos.

Rabinovich JE. 1980. Introducción a la ecología de poblaciones animales. Ciudad de México: Compañía Editorial Continental S. A.

Rae DJ, Liang WG, Watson DM, Beattie GAC, Huang MD. 1997. Evaluation of petroleum spray oils for control of the Asian citrus psylla, *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae), in China. Int J Pest Manage. 43(1):71-75.

Ramadugu C, Keremane ML, Halbert SE, Duan YP, Roose ML, Stover E, Lee RF. 2016. Long-term field evaluation reveals Huanglongbing resistance in citrus relatives. Plant Dis. 100(9):1858-1869.

Restrepo-García AM, Arias-Ortega PL, Soto-Giraldo A. 2016. Primer Reporte de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en el departamento de Caldas, Colombia. Bol Cient Mus Hist Nat. 20(1):204-210.

Rubio-González LT, Zambrano-Gómez EM, Castro-Ávila AO, Costa VA, Ebratt-Ravelo EE. 2011. *Diaphorina citri* Kuwayama y *Tamarixia radiata* (Waterson) en cultivos de cítricos de Cundinamarca, Colombia. En: [Socolen] Sociedad Colombiana de Entomología. Memorias del XXXVIII Congreso de la Sociedad Colombiana de Entomología. Manizales, Colombia: Socolen. pp. 105

Sánchez-González JA, Mellín-Rosas MA, Arredondo-Bernal HC, Vizcarra-Valdez NI, González-Hernández A, Montesinos-Matías R. 2015. Psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). En: Arredondo-Bernal HC, Rodríguez del Bosque LA, editores. Casos de control biológico en México. Vol. 2. Guadalajara, México: Biblioteca Básica de Agricultura.pp. 339-372.

Sandoval-Jiménez DE, Sánchez-González JA, Palomares-Pérez M, Arredondo-Bernal HC. 2013. Avances sobre el estudio de la dispersión de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en huertas citrícolas. En: Sociedad Mexicana de Control Biológico. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca de Juárez, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico. pp. 346-351.

[Senasica] Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2014. Manual de reproducción masiva de *Tamarixia radiata*, principal parasitoide del psílido asiático, vector del HLB de los cítricos. 3a ed. Tecomán, México: [CNRCB] Centro Nacional de Referencia de Control Biológico.

Skelley LH, Hoy MA. 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. Biol Control. 29(1):14-23.

Southwood TRE. 1978. Ecological methods with particular reference to the study of insects populations. 2a ed. Londres, Inglaterra: Chapman and Hall.

Trujillo-Arriaga J. 2010. Situación actual, regulación y manejo del HLB en México. En: [Sagarpa] Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Memorias del Segundo Taller Internacional sobre el Huanglongbing y el Psílido Asático de los Cítricos. Ciudad de México: Sagarpa. pp. 141-149

Tsai JH, Liu YH. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. J Econ Entomol. 93(6):1721-1725.

Tsai JH, Wang JJ, Liu YH. 2002. Seasonal abundance of the Asian *citrus* psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in southern Florida. Fla Entomol. 85(3):446-451.

Vizcarra-Valdez NI, Sánchez-González JA, González-Cabrera J, Arredondo-Bernal HC. 2013. Determinación de la preferencia de alimentación de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) sobre su huésped. En: Sociedad Mexicana de Control Biológico. Memorias del XXXVI Congreso Nacional de Control Biológico. Oaxaca de Juárez, México: Sociedad Mexicana de Control Biológico. pp. 132-137.

Waterston J. 1922. On the chalcid parasites of psyllids (Homoptera). Bull Entomol Res.13(1):41-58.

Way MJ. 1963. Mutualism between ants and honeydew-producing Homoptera. Annu Rev Entomol. 8:307-344.

Westbrook CJ, Hall DG, Stover E, Duan YP, Lee RF. 2011. Colonization of *Citrus* and *Citrus*-related germplasm by *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). HortScience. 46(7):997-1005.

White EM, Vivian-Smith G, Gosper RC. 2006. *Murraya paniculata*: what is the potential for this popular ornamental plant to become an environmental weed? En: Preston C, Watts JH, Crossman ND, editores. Proceedings, 15th Australian Weeds Conference. Adelaide, Australia: Weed Management Society of South Australia. pp. 63-66.

Wooler A, Padgham D, Arafat A. 1974. Outbreaks and new records. Saudi Arabia. *Diaphorina citri* on *citrus*. FAO Plant Protect B. 22:93-94.

Wulijarni-Soetjipto W. 1988. Effect of drying and storage temperature on the viability of Kemuning (*Murraya paniculata*) seeds. Berita Biologi. 3(8):424-429.

Zuparko RL, De Queiroz DL, LaSalle J. 2011. Two new species of *Tamarixia* (Hymenoptera: Eulophidae) from Chile and Australia, established as biological control agents of invasive psyllids (Hemiptera: Calophyidae, Triozidae) in California. Zootaxa 2921:13-27.

Impresión y encuadernación:
Fundación Cultural de Artes Gráficas (Javegraf)

Terminó de imprimirse
en agosto de 2017, Bogotá, D. C., Colombia