

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

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

Víctor H. **García-Méndez**¹, Laura D. **Ortega-Arenas**^{1*}, Juan A. **Villanueva-Jiménez**², Hussein **Sánchez-Arroyo**¹

¹Entomología y Acarología. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (garcia.hugo@colpos.mx), (ladeorar@colpos.mx), (hussein@colpos.mx). ²Agroecosistemas Tropicales. Colegio de Postgraduados. Campus Veracruz. 91690. Predio Tepetates, Municipio de Manlio F. Altamirano, Veracruz, México. (javj@colpos.mx).

RESUMEN

El manejo de la enfermedad bacteriana de los cítricos Huanglongbing (HLB) es más efectivo si se enfoca al control del insecto vector en Áreas Regionales de Control (ARCO). Para apoyar la estrategia de manejo regional de insecticidas se determinó la susceptibilidad de dos poblaciones de *Diaphorina citri* a los insecticidas endosulfán, dimetoato, imidacloprid, malatión, metomilo, abamectina y lambda-cialotrina. El imidacloprid formulado como producto comercial se evaluó por absorción sistémica en plántulas de naranja (*Citrus sinensis* L.) cv. Valencia. Los demás productos formulados en grado técnico se evaluaron por aplicación tópica en diluciones con acetona. La mortalidad se registró 24 h después de aplicar los insecticidas. Para cada producto se obtuvo la DL_{50} o CL_{50} mediante análisis Probit y se calculó el factor de resistencia. La colonia Cazones fue susceptible a los siete insecticidas evaluados, por lo que estos valores se proponen como base para la vigilancia de la resistencia. La población de Martínez también mostró susceptibilidad a abamectina, endosulfán, lambda-cialotrina, imidacloprid y malatión, y resistencia a dimetoato (87.52 X) y metomilo (83.58 X).

Palabras clave: *Diaphorina citri*, cítricos, control químico, HLB, Psílido Asiático de los Cítricos, resistencia.

INTRODUCCIÓN

El Huanglongbing (HLB) se considera la enfermedad más destructiva de los cítricos; su capacidad de diseminación y patogenicidad representa un riesgo alto para la producción citrícola

ABSTRACT

The management of the citrus bacterial disease Huanglongbing (HLB) is more effective when focused on the control of the insect vector in Regional Control Areas (RCA). To support the regional management strategy of insecticides, susceptibility of two *Diaphorina citri* populations to the insecticides endosulfan, dimethoate, imidacloprid, malathion, methomyl, abamectin and lambda-cyhalothrin was determined. Imidacloprid formulated as a commercial product was evaluated by systemic absorption in orange seedlings (*Citrus sinensis* L.) cv. Valencia. The other technical grade formulated products were evaluated by topical application in dilutions with acetone. Mortality was registered 24 h after applying the insecticides. For each product the LD_{50} or LC_{50} was obtained through Probit analysis and the resistance factor was calculated. Cazones colony was susceptible to the seven insecticides evaluated, thus these values are proposed as a baseline for monitoring resistance. Martínez population also showed susceptibility to abamectin, endosulfan, lambda-cyhalothrin, imidacloprid and malathion, and resistance to dimethoate (87.52 X) and methomyl (83.58 X).

Key words: *Diaphorina citri*, citrus, chemical control, HLB, Asian citrus psyllid, resistance.

INTRODUCTION

Huanglongbing (HLB) is considered the most destructive citrus disease. Its capacity of dissemination and pathogenicity represents a high risk for citrus production in Mexico and other parts of the world (SENASICA, 2014). *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), also known as the Asian Citrus Psyllid (ACP), is the primary vector

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: mayo, 2015. Aprobado: noviembre, 2015.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 50: 355-365. 2016.

en México y otros lugares del mundo (SENASICA, 2014). *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae), también conocido como el Psílido Asiático de los Cítricos (PAC), es el vector primario del HLB, por lo que su control es vital para el manejo adecuado de la enfermedad (Halbert y Manjunath, 2004; SENASICA, 2014). La asociación del PAC y el HLB han puesto en riesgo a más de 67,000 productores de cítricos de México, que concentran una producción de más de 7 millones Mg, con valor aproximado de MX\$10.2 mil millones (SENASICA, 2014). Para frenar la expansión de la enfermedad, el gobierno de México, igual que en otros países, ha impulsado un programa de control basado en tres estrategias: el control químico del vector (PAC) en Áreas Regionales de Control (ARCO), la producción y uso de plantas certificadas y la eliminación de árboles infectados en el momento de su detección (SENASICA, 2014; Lewis-Rosenblum *et al.*, 2015). Sin embargo, la práctica común entre los productores es la aplicación indiscriminada de varias materias activas insecticidas cada temporada (Boina *et al.*, 2009). Ante la situación actual se prevé que el desarrollo de resistencia a diferentes ingredientes activos aumente considerablemente en los próximos años. Tiwari *et al.* (2012) documentaron que el PAC puede sobrevivir a la aplicación de varios insecticidas, principalmente los que comparten al menos un mecanismo de resistencia y que fueron utilizados de manera intensiva anteriormente para controlar otras plagas de cítricos. Esto significó que para controlar a *D. citri* en huertas de Florida, EE.UU., se elevara hasta 35 veces la dosis inicial de imidacloprid y 18 veces la de clorpirifos (Tiwari *et al.*, 2011).

En el manejo integrado de plagas es importante detectar cambios tempranos en la susceptibilidad a los insecticidas en uso en poblaciones de campo y así evitar aplicaciones innecesarias para alargar la vida útil de los insecticidas disponibles (Georghiou y Taylor, 1986; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). Esta detección temprana facilita aplicar medidas opcionales de control y es la base de los programas de control químico de una determinada plaga o vector. El objetivo de esta investigación fue determinar la susceptibilidad de una población de *D. citri*, proveniente de Martínez de la Torre, a diferentes materias insecticidas de uso común en las regiones citrícolas de Veracruz, México. La susceptibilidad de esta población fue comparada con la de una población de laboratorio para determinar la

of HLB, thus its control is vital for the adequate management of the disease (Halbert and Manjunath, 2004; SENASICA, 2014). The association of ACP and HLB has left defenseless more than 67 000 citrus producers in Mexico, who concentrate a production of more than 7 million Mg, with an approximate value of MX\$10.2 billion (SENASICA, 2014). To halt the expansion of the disease, the Mexican government, as in other countries, has initiated a control program based on three strategies: chemical control of the vector (ACP) in Regional Control Areas (RCA), the production and use of certified plants and the elimination of infected trees at the moment of their detection (SENASICA, 2014; Lewis-Rosenblum *et al.*, 2015). However, the common practice among the producers is the indiscriminate application of various active insecticide materials each season (Boina *et al.*, 2009). In the present situation, it is foreseen that the development of resistance to different active ingredients will increase considerably in the coming years. Tiwari *et al.* (2012) documented that ACP can survive the application of various insecticides; mainly those that share at least one resistance mechanism and that were previously used intensively to control other citrus pests. This meant that to control *D. citri* in orchards of Florida, U.S., the initial dose of imidacloprid would be increased 35 times and 18 that of chlorpyrifos (Tiwari *et al.*, 2011).

In integrated pest management it is important to detect early changes in susceptibility to insecticides in use in field populations and thus avoid unnecessary applications to prolong the useful lifespan of the available insecticides (Georghiou and Taylor, 1986; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). This early detection facilitates the application of optional control measures and is the basis of the chemical control programs of a determined pest or vector. The objective of the present study was to determine the susceptibility of a population of *D. citri*, from Martínez de la Torre, to different insecticide materials of common use in the citrus regions of Veracruz, Mexico. The susceptibility of this population was compared with that of a laboratory population to determine the relative response of activity and to infer the development of resistance.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out from May of 2012 to April of 2013 in the Vectors Laboratory of the Graduate Program of Plant

respuesta relativa de actividad e inferir el desarrollo de resistencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó de mayo del 2012 a abril del 2013 en el Laboratorio de Vectores del Postgrado de Fitosanidad-Entomología y Acarología, del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México, y en la Junta Local de Sanidad Vegetal del Ejido la Palma en Martínez de la Torre, Veracruz.

Poblaciones de *Diaphorina citri*

Para el estudio se obtuvieron dos poblaciones de *Diaphorina citri*; se denominaron colonia Cazonos y colonia Martínez y su identidad fue corroborada mediante claves para Psylloidea propuestas por Yang (1984) y Burckhardt (2007). La colonia Cazonos se recolectó de plantas de limonaria (*Murraya paniculata* L., Rutaceae) y en huertas de naranja (*Citrus sinensis* L. cv. Valencia, Rutaceae), en ambos casos sin aplicaciones regulares de insecticidas, en la comunidad de Cazonos de Herrera, Veracruz. Esta colonia se mantuvo aislada en un invernadero y libre de presión de selección por insecticidas desde el año 2009. Adultos de esta colonia fueron transferidos a plantas de naranja cv. Valencia de 4 meses de edad, mantenidas en un sustrato de vermicompost, tierra de hoja, y agrolita (3:2:1), en bolsas plásticas de 30 x 30 cm colocadas en jaulas entomológicas de madera (60 x 40 x 60 cm) cubiertas con tela de organza. Los adultos permanecieron en los brotes de las plantas durante una semana para permitir la oviposición, luego se retiraron con un aspirador. Las plantas infestadas se mantuvieron en las jaulas en invernadero (25 ± 5 °C y 12:12 h luz:oscuridad) y hasta la emergencia de nuevos adultos, con los que se realizaron los bioensayos.

La colonia Martínez se recolectó de huertas comerciales de lima (*Citrus latifolia* (Tan) cv. Persa) en el ejido La Palma, Martínez de la Torre, Veracruz. Los productores de este ejido indicaron la falta de efectividad de algunas aplicaciones de insecticidas realizados contra *D. citri* en campo. Árboles con brotes infestados por ninfas de 5° instar se localizaron durante febrero, marzo y abril del 2013, y se cubrieron anticipadamente con tela de organza para capturar los adultos. Los adultos emergidos entre 24 a 48 h (aproximadamente 10 mil insectos en total), se confinaron en los aspiradores y en grupos de 20 individuos por aspirador; luego se trasladaron en una hielera al laboratorio donde se evaluaron

Insecticidas

Los insecticidas más utilizados por los productores se seleccionaron para el control del PAC; seis en grado analítico y una

Health-Entomology and Acarology, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de Mexico, and in the Local Board of Plant Health of the ejido La Palma in Martínez de la Torre, Veracruz.

Populations of *Diaphorina citri*

Two populations of *Diaphorina citri* were obtained for the study; these were named Cazonos and Martínez colonies and their identity was verified using keys for Psylloidea proposed by Yang (1984) and Burckhardt (2007). Cazonos colony was collected from orange jasmin (*Murraya paniculata* (L.), Jack; Rutaceae) plants and in orange orchards (*Citrus sinensis* L. cv. Valencia, Rutaceae), in both cases without regular applications of insecticides, in the community of Cazonos de Herrera, Veracruz. This colony was maintained isolated in a greenhouse and free of selection pressure from insecticides since the year 2009. Adults from this colony were transferred to plants of cv. Valencia of 4 months age, maintained in a substrate of vermicompost, leaf soil and agrolite (3:2:1), in plastic bags of 30 x 30 cm placed in entomological cages (60 x 40 x 60 cm) covered with fine mesh. Adults remained in the shoots of the plants during one week to allow egg laying, then were removed with an aspirator. Infested plants were maintained in the cages in the greenhouse (25 ± 5 °C and 12:12 h light:darkness) until the emergence of new adults, organisms used in the bioassays.

Martínez colony was collected from commercial lime (*Citrus latifolia* (Tan) cv. Persa) orchards in the ejido La Palma, Martínez de la Torre, Veracruz. Farmers of this ejido indicated the lack of effectiveness of some applications of insecticides made against *D. citri* in the field. Trees with shoots infested by nymphs of the 5th instar were located during February, March and April of 2013, and were anticipatedly covered with fine mesh to capture the adults. Adults emerged between 24 to 48 h (a total of approximately 10 thousand insects), were confined in the aspirators and in groups of 20 individuals per aspirator: then were transferred in a cooler to the laboratory where they were evaluated.

Insecticides

Insecticides most used by the growers for ACP control were selected; six in analytical grade and a commercial formulation; they represented different toxicological groups according to the classification of Lagunes-Tejeda and Villanueva-Jiménez (1994). Common names, active ingredient concentration, manufacturer and toxicological group of these insecticides are as follows: endosulfan, 96 %, Syngenta, organochlorine-cyclodiene (OC-Cd); dimethoate, 98 %, Sigma Aldrich,

formulación comercial; ellos representaron diferentes grupos toxicológicos de acuerdo con la clasificación de Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez (1994). Los nombres comunes, concentración del ingrediente activo, compañía fabricante y grupo toxicológico al que pertenecen estos insecticidas son: endosulfán, 96 %, Syngenta, organoclorado-ciclodieno (OC-Cd); dimetoato, 98 %, Sigma Aldrich, organofosforado dimetil alifático (FA-SM); malatión, 96 %, ChemService, organofosforado carboxilado (F-Cx); metomilo, 90 %, Sinochem Hebei Corp., monometil carbamato (CA-MM); abamectina, 95 %, Sigma-Aldrich, insecticida microbiano (I-MICR); lambda-cialotrina, 92.1 %, Syngenta Agro, piretroide (PIRT-I); e imidacloprid, formulación comercial utilizada al 30.20 %, Helmfidor de México, neonicotenoide (NIC). Las diluciones de imidacloprid en los bioensayos se realizaron con agua destilada; el resto de los insecticidas se diluyeron en acetona grado analítico (Reasol®).

Bioensayos

Los bioensayos con insecticidas de contacto en grado técnico se realizaron con el método tópico descrito por Tiwari *et al.* (2011). Para evaluar cada dosis de insecticida, se utilizaron 20 adultos de 1 a 3 d de emergidos y 2 h en ayuno previo por cada repetición. Los adultos se anestesiaron con CO₂ por 2 min para facilitar la aplicación de los tratamientos (Mann *et al.*, 2012). Luego, con un pincel entomológico (000), los adultos se colocaron en el envés de un disco de hoja de naranja *C. sinensis* cv. Valencia que puso en una caja Petri (Ø 4.0 cm), con una base de 3 mm de agar-agar 1 % (Merck®); la caja fue cubierta con malla de nylon para mantenerla ventilada. Los insecticidas (0.2 µL) se aplicaron con una jeringa de repetición para cromatografía (Hamilton®) de 10 µL, acoplada a un microaplicador (Hamilton® modelo PB-600-1), sobre el pronoto de cada individuo. Las cajas con los insectos tratados se mantuvieron a 27 ± 1 °C, 50 % HR y fotoperiodo de 14:10 h luz:oscuridad. La mortalidad se registró 24 h después de la aplicación.

El bioensayo con imidacloprid se realizó con el método sistémico propuesto por Boina *et al.* (2009). Las raíces de una plántula de naranja cv. Valencia de 120 d de edad, se sumergieron 48 h en una concentración conocida del insecticida diluido en agua destilada. Luego la plántula se transfirió a un recipiente con agua destilada. En una de las hojas se sujetó una jaula entomológica tipo clip, de poliuretano circular (Ø 4.0 cm). Por un orificio lateral de la jaula se introdujeron 20 adultos de 1 a 3 d de emergidos y 2 h en ayuno previo. La mortalidad se registró 24 h después de la aplicación y los tratamientos se mantuvieron en invernadero en las condiciones ya señaladas.

Al inicio, seis dosis logarítmicas entre 0.00001 y 1 % se usaron para detectar las dosis que ocasionaban porcentajes de mortalidad

aliphatic organophosphate dimethyl (FA-SM); malathion, 96 %, ChemService, carboxylated organophosphorus (F-Cx); methomyl, 90 %, Sinochem Hebei Corp, monomethyl carbamate (CA-MM); abamectin, 95 %, Sigma-Aldrich, microbial insecticide (I-MICR); lambda-cyhalothrin, 92.1 %, Syngenta Agro, pyrethroid (PIRT-I); and imidacloprid, commercial formulation used at 30.20 %, Helmfidor of Mexico, neonicotinoid (NIC). Imidacloprid dilutions in the bioassays were made with distilled water; six other insecticides were diluted with analytical grade acetone (Reasol®).

Bioassays

Bioassays with contact insecticides in technical grade were made with the topical method described by Tiwari *et al.* (2011). To evaluate each dose of insecticide, 20 adults of 1 to 3 dof emergence and after 2 h of fasting they were used for each replicate. Adults were anesthetized with CO₂ for 2 min to facilitate treatments application (Mann *et al.*, 2012). Then, with an entomological brush (000), adults were placed on the underside of an orange (*C. sinensis* cv. Valencia) leaf disc that was introduced in a Petri dish (Ø 4.0 cm), containing 3 mm of a 1 % agar-agar (Merck®) substrate; the Petri dish was covered by a nylon mesh for ventilation. Insecticides (0.2 µL) were applied with a chromatographic syringe (Hamilton®) of 10 µL, coupled to repeated dispenser (Hamilton® model PB-600-1), on the pronotum of each insect. Petri dishes were maintained at 27 ± 1 °C, 50 % RH and photoperiod of 14:10 h light:darkness. Mortality was registered 24 h after treatment application.

Imidacloprid bioassay was performed using the plant systemic method proposed by Boina *et al.* (2009). The roots of Valencia citrus seedling of 120 d of age, were immersed 48 h in a known concentration of the insecticide diluted in distilled water. Then, the seedling was transferred to a recipient with distilled water. A circular (Ø 4.0 cm) entomological clip cage was held on a leaf. Twenty adults of 1 to 3 d from emergence, previously subjected to a fasting period of 2 h, were introduced to the cage through a lateral orifice. Mortality was registered 24 h after application and the treatments were maintained in the greenhouse under the previously described conditions.

Initially, six logarithmic doses between 0.00001 and 1 % were used to detect the dose that caused percentages of insect mortality in the 10 to 90 % were used interval. At the end, eight logarithmic doses were selected in the interval to carry out the full bioassay. For each dose, five replicates were used of 20 individuals of 1 to 3 d of age, performed on different days, and 800 insects treated with each insecticide were obtained. Each replicate included a control, where acetone was applied in the topical bioassay or distilled water in the systemic bioassay.

del insecto en el intervalo 10 a 90 %. Al final se seleccionaron ocho dosis logarítmicas en el intervalo para realizar el bioensayo completo. Para cada dosis se utilizaron cinco repeticiones de 20 individuos cada uno de 1 a 3 d de edad, en días diferentes y se obtuvieron 800 insectos tratados con cada insecticida. Cada repetición incluyó un testigo, al que se le aplicó acetona en el bioensayo tópico o agua destilada en el bioensayo sistémico.

El porcentaje de mortalidad individual se registró 24 h después de cada aplicación; el individuo se consideró muerto cuando no presentó movilidad al presionar el abdomen con una aguja de disección. El nivel máximo de mortalidad aceptable en el testigo fue ≤ 12 %. La mortalidad en los tratamientos se corrigió con la ecuación de Abbott (1925). El diseño experimental fue completamente al azar con cinco repeticiones.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante el procedimiento Probit en SAS[®] v. 9.2 (SAS, 2009). Los valores obtenidos fueron DL_{50} o CL_{50} (dosis o concentración letal que mata al 50 % de la población expuesta, expresada en ng IA insecto⁻¹ o mg mL⁻¹, respectivamente), sus límites de confianza (LC) al 95 % y la línea de respuesta log dosis-mortalidad. El factor de resistencia (FR) se obtuvo al dividir la DL_{50} o CL_{50} de la población Martínez entre la DL_{50} o CL_{50} de la población Cazonas. Las DL_{50} s o CL_{50} s de las poblaciones comparadas no se consideraron significativamente diferentes entre sí cuando se traslaparon sus LC (Finney, 1971; Robertson y Priester, 1992).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los adultos de *D. citri* mostraron susceptibilidad diferente a los siete insecticidas evaluados. La colonia Cazonas fue más susceptible que la colonia Martínez; la primera se mantuvo aislada de la presión de selección de insecticidas por más de cinco años lo que permitió considerarla como la colonia de referencia en este estudio. La resistencia de las plagas a los insecticidas es uno de los problemas más graves que impide el avance de los programas de manejo de vectores. Cambiar insecticida, cuando el usado anteriormente ya no funciona, no es una solución efectiva (Ortega *et al.*, 1998). Conocer la susceptibilidad de las poblaciones de campo a los insecticidas puede ayudar a disminuir el uso de productos no efectivos, que encarecen la producción y contaminan el ambiente.

Lambda-cialotrina mostró la toxicidad mayor en la colonia Cazonas, según la DL_{50} ; en orden decreciente le siguieron abamectina, dimetoato, metomilo, malatión, imidacloprid y endosulfán. El grupo de

The percentage of individual mortality was registered 24 h after each application; an individual was considered dead when mobility was not observed after the abdomen was pressed with a dissection needle. The maximum level of acceptable mortality in the control was ≤ 12 %. Mortality in the treatments was corrected with the equation of Abbott (1925). The experimental design was completely randomized with five replicates.

Statistical analysis

Results were analyzed through the Probit procedure in SAS[®] v. 9.2 (SAS, 2009). Values obtained were the LD_{50} or LC_{50} (lethal dose or concentration that kills 50 % of the exposed population, expressed in ng AI insect⁻¹, or mg mL⁻¹, respectively), the confidence limits (CL) at 95 % and the log dose-mortality response line. The resistance factor (RF) was obtained by dividing the LD_{50} or LC_{50} of the Martínez population by the LD_{50} or LC_{50} of the Cazonas population. The LD_{50} or LC_{50} of the compared populations were not considered significantly different from each other when their LC overlapped (Finney, 1971; Robertson and Priesler, 1992).

RESULTS AND DISCUSSION

The adults of *D. citri* exhibited different susceptibility to the seven insecticides evaluated. The Cazonas colony was more susceptible than the Martínez colony; the former was maintained isolated from the selection pressure of insecticides for more than five years, which allowed it to be considered as the reference colony in this study. Resistance of pests to insecticides is one of the most serious problems that prevents the advancement of vector management programs. Switching insecticides when the one previously used is no longer effective is not a viable solution (Ortega *et al.*, 1998). Knowing the susceptibility of field populations to the insecticides can help to reduce the use of non-effective products, which increase production costs and contaminate the environment.

Lambda-cyhalothrin showed highest toxicity in the Cazonas colony, according to the LD_{50} ; in decreasing order, it was followed by abamectin, dimethoate, methomyl, malathion, imidacloprid and endosulfan. The group of pyrethroids (PIRT) presented the highest toxicity, followed by the microbials (I-MICR), aliphatic phosphates (FA-SM), carbamates (CA-MM) and carboxylated phosphates (F-Cx). The group of organochlorine cyclodienes (OC-Cd) was the least toxic (Table 1). Slopes

los piretroides (PIRT) mostró la toxicidad mayor, le siguieron los microbiales (I-MICR), fosforados alifáticos (FA-SM), carbamatos (CA-MM) y fosforados carboxílicos (F-Cx). El grupo de los organoclorados ciclodienos (OC-Cd) fue el menos tóxico (Cuadro 1). Las pendientes registradas para todos los insecticidas fueron mayores de 0.84 ± 0.13 , lo cual indicó cierta uniformidad de la colonia para responder a la aplicación de los productos evaluados.

Lambda-cialotrina también fue el producto más tóxico para la población Martínez, según la DL_{50} . El metomilo mostró la toxicidad menor. Entre estos dos productos en orden de efectividad están abamectina, endosulfán, malatión y dimetoato. El grupo PIRT también fue efectivo, y a diferencia de la colonia de Cazones los menos tóxicos fueron los CA-MM. Las pendientes registradas variaron de 0.51 ± 0.03 (dimetoato) a 1.29 ± 0.087 (abamectina), es decir, la respuesta de la población fue uniforme a la selección con abamectina, lambdacialotrina y endosulfán, y heterogeneidad para malatión, dimetoato y metomilo. Los dos últimos presentaron un factor de resistencia (FR_{50}) elevado (Cuadro 1).

registered for all of the insecticides were higher than 0.84 ± 0.13 , which indicated certain uniformity of the colony for responding to the application of the products evaluated.

Lambda-cyhalothrin was also the most toxic product for the Martínez population, according to the DL_{50} . Methomyl showed the lowest toxicity. Between these two products in order of effectiveness are abamectin, endosulfan, malathion and dimethoate. The PIRT group was also effective, in contrast to the Cazones colony, the CA-MM were least toxic. Registered slopes varied from 0.51 ± 0.03 (dimethoate) to 1.29 ± 0.087 (abamectin), which indicated that population response was uniform to selection with abamectin, lambda-cyhalothrin and endosulfan, and heterogeneous for malathion, dimethoate and methomyl. The latter two presented a high resistance factor (RF_{50}) (Table 1).

The RF_{50} of each insecticide evaluated in the Martínez colony (Table 1), with respect to the Cazones colony, indicated susceptibility to the insecticides abamectin, endosulfan, lambda-cyhalothrin, imidacloprid and malathion, considering that values

Cuadro 1. Toxicidad de insecticidas en adultos de *D. citri*, procedentes de Cazones de Herrera (colonia Cazones) y Martínez de la Torre (colonia Martínez), Veracruz, México.

Table 1. Toxicity of insecticides in adults of *D. citri*, from Cazones de Herrera (Cazones colony) and Martínez de la Torre (Martínez colony), Veracruz, Mexico.

Insecticida (Grupo Toxicológico)	Colonia	DL_{50} o CL_{50} [†]	LC (95%) [‡]	$b \pm EE$ [§]	χ^2 ^b	FR_{50} ^o
abamectina	Cazones	0.440	0.2100–0.79	0.95 ± 0.13	12.20	–
(I-MICR)	Martínez	0.670	0.5500–0.82	1.29 ± 0.087	14.91	1.52X
lambda-cialotrina	Cazones	0.013	0.0052–0.027	0.84 ± 0.13	37.36	–
(PIRT)	Martínez	0.110	0.0260–0.40	0.79 ± 0.17	20.06	8.46X
dimetoato	Cazones	1.200	0.8600–1.70	1.60 ± 0.16	98.74	–
(FA-SM)	Martínez	105.030	56.2300–220.05	0.51 ± 0.03	183.12	87.52X
endosulfán	Cazones	4.310	1.7000–13.2	0.93 ± 0.17	29.07	–
(OC-Cd)	Martínez	5.100	2.5800–9.34	0.83 ± 0.10	67.17	1.18X
imidacloprid	Cazones	2.070	1.4700–2.78	1.68 ± 0.16	102.48	–
(NIC)	Martínez	5.750	1.7800–10.45	1.42 ± 0.34	17.10	2.77X
malatión	Cazones	3.190	1.7400–5.69	1.37 ± 0.19	48.01	–
(F-Cx)	Martínez	12.100	4.1300–46.3	0.53 ± 0.07	46.70	3.87X
metomilo	Cazones	1.950	0.6700–5.24	1.00 ± 0.21	21.81	–
(CA-MM)	Martínez	163.740	59.1400–447.95	0.64 ± 0.08	57.08	83.58X

[†] DL_{50} o CL_{50} : dosis o concentración letal 50 en ng de ingrediente activo por insecto (ng IA por insecto); [‡]LC: límites de confianza al 95%; [§] $b \pm EE$: pendiente con su error estándar; ^b χ^2 : estimación de la línea recta en la regresión; ^o FR_{50} : factor de resistencia 50 (DL_{50} o CL_{50} de Martínez/ DL_{50} o CL_{50} de Cazones). El valor de imidacloprid está expresado en $mg mL^{-1}$ para representar una Concentración Letal 50 (CL_{50}). ^o LD_{50} o LC_{50} : Lethal dose or concentration 50 in ng of active ingredient per insect ($ng AI insect^{-1}$); [‡]LC: Confidence limits at 95 %; [§] $b \pm EE$: slope with standard error; ^b χ^2 : estimation of the straight line in the regression; ^o FR_{50} : resistance factor 50 (LD_{50} or LC_{50} of Martínez/ LD_{50} or LC_{50} of Cazones). The value of imidacloprid is expressed in $mg mL^{-1}$ to represent a Lethal Concentration 50 (LC_{50}).

El FR_{50} de cada insecticida evaluado en la colonia de Martínez (Cuadro 1), en relación con la colonia Cazonos, indicó susceptibilidad a los insecticidas abamectina, endosulfán, lambda-cialotrina, imidacloprid y malatión, debido a que los valores fueron semejantes a los de la población de referencia y por el traslape de los límites de confianza. El FR_{50} estimado para metomilo y dimetoato indicó que se expresaron los genes que aportan resistencia a estos insecticidas en adultos de *D. citri* de Martínez de la Torre. La separación de los límites de confianza de las líneas log dosis-Probit permitieron confirmar la falta de susceptibilidad de la colonia Martínez, según la DL_{50} al tóxico evaluado. Esto mostró la capacidad de los adultos de la población de campo para sobrevivir independientemente de la presencia de esos productos (Cuadro 1).

La colonia Cazonos se ha mantenido por más de cinco años libre del patógeno y de la aplicación de insecticidas. Adultos de esta colonia fueron susceptibles a los siete insecticidas evaluados, por lo que las líneas log dosis-Probit de cada insecticida pueden utilizarse como referencia para el manejo de la resistencia del psílido en Veracruz, México (Prabhaker *et al.*, 2006). De acuerdo con Tiwari *et al.* (2010), el empleo de insectos libres de HLB da certeza a los bioensayos, ya que la susceptibilidad a los insecticidas se reduce en poblaciones de PAC infectadas con *Candidatus Liberibacter asiaticus*.

La colonia Martínez contiene genes de resistencia en frecuencia detectable para los insecticidas metomilo y dimetoato. En México, y en particular en la región productora de lima Persa de Martínez de la Torre, se ha usado insecticidas de los principales grupos químicos (organoclorados, organofosforados, carbamatos, neonicotinoides y piretroides, entre otros) contra *D. citri*, desde que estuvieron a la venta (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). Es probable que los niveles de resistencia registrados en este estudio se relacionen con el historial de exposición previo. Esto concordaría con las observaciones de algunos productores de la región, respecto a la falta de control de *D. citri* con aplicaciones de insecticidas convencionales, y con Tiwari *et al.* (2011); ellos indicaron que la resistencia de *D. citri* a insecticidas organoclorados y neonicotinoides fue mayor en áreas de Florida, donde se usaron con frecuencia mayor.

Por el contrario, la susceptibilidad relativa de la colonia Martínez a abamectina, lambda-cialotrina,

were similar to those of the reference population and to the overlap of the confidence limits. Estimated methomyl and dimethoate RF_{50} values indicated that genes that supplying resistance to these insecticides were expressed in adults of *D. citri* from Martínez de la Torre. Separation of the confidence limits of log dose-Probit lines allowed the confirmation of the lack of susceptibility of the Martínez colony, according to the LD_{50} of the evaluated toxic. This showed the capacity of field population adults to survive, independently of the presence of these products (Table 1).

Cazonos colony has been maintained free of the pathogen for more than five years and from the application of pesticides. Adults of this colony were susceptible to the seven insecticides evaluated, thus the log dose-Probit lines of each insecticide can be used as reference for managing the resistance of the psyllid in Veracruz, Mexico (Prabhaker *et al.*, 2006). According to Tiwari *et al.* (2010), the use of insects free of HLB gives certainty to the bioassays, since the susceptibility of insects to insecticides is reduced in populations of ACP infected with *Candidatus Liberibacter asiaticus*.

Martínez colony contains resistance genes in detectable frequency for the insecticides methomyl and dimethoate. In Mexico and in particular in the Persa lime producing region of Martínez de la Torre, insecticides of the principal chemical groups (organochlorines, organophosphates, carbamates, neonicotinoids and pyrethroids, among others) have been used against *D. citri*, since they first were sold for this purpose (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). It is probable that the resistance levels registered in our study are related to the previous history of exposure. This would concur with the observations of some farmers of the region, with respect to the lack of control of *D. citri* with applications of conventional insecticides, and with Tiwari *et al.* (2011); they indicated that the resistance of *D. citri* to organochlorines and neonicotinoids insecticides was higher in areas of Florida, where they were used with more frequency.

In contrast, the relative susceptibility of the Martínez colony to abamectin, lambda-cyhalothrin, endosulfan, malathion and imidacloprid could be explained by the scant selection of the resistance mechanisms associated to these molecules. Therefore, the frequency of resistance genes is not yet found at detectable levels. High levels of resistance sometimes

endosulfán, malatión e imidacloprid podría explicarse por la selección escasa de los mecanismos de resistencia asociados a estas moléculas. Por ello, la frecuencia de genes de resistencia aún no está en niveles detectables. Los niveles altos de resistencia algunas veces han mostrado efectos opuestos. En poblaciones de *D. citri* de Florida expuestas a dosis subletales de imidacloprid se detectaron incrementos de enzimas detoxificadoras (glutación transferasa (GTS) y citocromo P450 oxidadas), que les permitió sobrevivir a la exposición a insecticidas (Tiwari *et al.*, 2011; 2012). La resistencia a clorpirifos y fenpropatrina continúa en incremento en Florida, y estos productos son utilizados intensamente para el control de esta plaga (Tiwari *et al.*, 2013). El imidacloprid es costoso pero efectivo contra *D. citri* (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012). El producto ejerce una acción agonista en los receptores postsinápticos de acetilcolina (IRAC, 2014), que es el sitio específico de los insectos que les confiere toxicidad baja a mamíferos (Liu *et al.*, 2005; Phua *et al.*, 2009). Además requiere aplicarse adecuada y oportunamente para que sea traslocado y abata las poblaciones (Tomizawa y Casida, 2003).

El dimetoato es un producto usado en México para el control de insectos chupadores desde hace varias décadas (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012). Inhibe la acción de la acetilcolinesterasa (IRAC, 2014) y se usa en el control de *D. citri* en huertas con tasa baja de infestación. El dimetoato es ampliamente aceptado por los productores ya que en apariencia es efectivo contra plagas diversas. Este producto es recomendado en folletos técnicos distribuidos por el Gobierno Federal (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011; Robles-González *et al.*, 2011); pero en los textos se enfatiza que el producto sólo debe aplicarse una vez al año y con la dosis recomendada para evitar la selección de insectos resistentes (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010). El dimetoato puede degradarse con más de cuatro tipos de enzimas detoxificadoras, de modo que podría crearse resistencia cruzada con varios insecticidas que comparten por lo menos un mecanismo de resistencia (Lagunes-Tejeda y Villanueva-Jiménez, 1994). Este fenómeno es común entre compuestos organofosforados y carbamatos (Tiwari *et al.*, 2012) y ello puede explicar, en parte, la tolerancia de la población de campo a metomilo (83.58 X) y la separación de las líneas de respuesta entre las colonias estudiadas. La acetilcolinesterasa (AChE) y GTS (Zhu y Gao, 1999; Gao y Zhu 2000; Tiwari *et al.*, 2012) son las enzimas en mecanismos comunes,

have shown opposite effects. In populations of *D. citri* of Florida exposed to sub-lethal doses of imidacloprid, increments of detoxifying enzymes (glutathione transferase (GTS) and cytochrome P450 oxidases) were detected, allowing them to survive the exposure to insecticides (Tiwari *et al.*, 2011; 2012). The resistance to chlorpyrifos and fenpropathrin continues to increase in Florida, and these products are used intensively for the control of this pest (Tiwari *et al.*, 2013). Imidacloprid is a costly product, but it is effective against *D. citri* (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012). The product exerts an agonist action in the postsynaptic acetylcholine receptors (IRAC, 2014), which is the specific site of the insects that confers them low toxicity to mammals (Liu *et al.*, 2005; Phua *et al.*, 2009). Furthermore, it requires an adequate and opportune application to be translocated and to take down the populations (Tomizawa and Casida, 2003).

Dimethoate is a product used in Mexico for the control of sucking insects for various decades (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012). It inhibits the action of the acetylcholinesterase (IRAC, 2014), and it is used in the control of *D. citri* in orchards with a low infestation rate. Dimethoate is widely accepted by the growers because apparently it is effective against diverse pests. This product is recommended in technical brochures distributed by the Federal Government (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011; Robles-González *et al.*, 2011). However, in those texts it is emphasized that the product should only be applied once a year and at the recommended dose to avoid the selection of resistant insects (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010). Dimethoate can be degraded by more than four types of detoxifying enzymes, thus resistance crossed with various insecticides that share at least one resistance mechanism could be created (Lagunes-Tejeda and Villanueva-Jiménez, 1994). This phenomenon is common among organophosphate compounds and carbamates (Tiwari *et al.*, 2012) and it can explain partially the tolerance of the field population to methomyl (83.58 X) and the separation of the response lines between the colonies studied. Acetylcholinesterase (AChE) and GTS (Zhu and Gao, 1999; Gao and Zhu, 2000; Tiwari *et al.*, 2012) are the enzymes present in common mechanisms that were identified in the tolerance of various insects to dimethoate and methomyl. Methomyl is not authorized for the control of *D.*

que se han identificado en la tolerancia de varios insectos al dimetoato y metomilo. El metomilo no está autorizado para el control de *D. citri* en México y aparentemente no se ha empleado en años recientes para el combate del PAC en Martínez de la Torre. Esto confirma la importancia de tener la referencia de susceptibilidad de la mayoría de grupos toxicológicos posibles, inclusive de productos que podrían ser autorizados próximamente para el control del PAC, y prevenir problemas de control (Prabhaker *et al.*, 2006). La aplicación continua y anárquica de insecticidas en las regiones citrícolas de Veracruz conducirá a disminuir la vida útil de los grupos toxicológicos. Éste puede ser el caso de dimetoato con clorpirifos, que comparten mecanismos de resistencia por acción de GTS y citocromo P450 oxidadas (Ortega, 1998; Ortega *et al.*, 1998; Tiwari *et al.*, 2011). El uso de dimetoato y metomilo debe limitarse en Martínez de la Torre, debido a los niveles de resistencia encontrados en *D. citri*, para no continuar incrementándola en estos y otros productos. Según Georghiou y Taylor (1986), el control de una especie podría perderse con 1 % de individuos resistentes en una a seis generaciones.

El desarrollo y establecimiento de la resistencia es posible en escenarios con presión de selección alta, sin rotación adecuada de insecticidas o con el uso del mismo grupo toxicológico (Ortega *et al.*, 1998; Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009). La resistencia es un proceso dinámico (Georghiou y Mellon, 1983), por lo que parece necesario realizar un monitoreo constante en cada área agrícola. Las líneas base obtenidas en este estudio son una referencia para el monitoreo de la resistencia a estos insecticidas aplicados contra *D. citri*. Según Tiwari *et al.* (2011), en 1998 se reportó la presencia de *D. citri* en huertos de cítricos en Florida; luego, el manejo regional de la plaga se ha realizado continuamente, basado en el uso racional y selectivo de insecticidas. Lo anterior ha promovido la reducción de desarrollo de resistencia. El manejo de *D. citri* basado en grupos toxicológicos es factible; así disminuye la frecuencia de aplicación, se evita el uso de mezclas y de insecticidas de persistencia ambiental prolongada, se definen los momentos más oportunos para realizar acciones de control químico por región y se incorporan métodos de impacto ambiental menor.

CONCLUSIONES

La colonia Cazonas de *D. citri* originaria de Cazonas de Herrera, Veracruz, fue susceptible a los insecticidas

citri in Mexico and apparently was not used in recent years to combat ACP in Martínez de la Torre. This confirms the importance of having the susceptibility reference for most of the possible toxicological groups, even products that could be authorized soon for the control of ACP, and prevent control problems (Prabhaker *et al.*, 2006). The continuous and anarchic application of insecticides in the citrus regions of Veracruz will lead to reducing the useful life of the toxicological groups. This may be the case of dimethoate with chlorpyrifos, which share resistance mechanisms by action of GTS and cytochrome P450 oxidases (Ortega, 1998; Ortega *et al.*, 1998; Tiwari *et al.*, 2011). The use of dimethoate and methomyl should be limited in Martínez de la Torre, due to the resistance levels found in *D. citri*, in order not to continue incrementing resistance in these and other products. According to Georghiou and Taylor (1986), the capacity of controlling a species could be lost with presence of 1 % of resistant individuals in one to seven generations.

The development and establishment of resistance is possible in scenarios with high selection pressure, without adequate rotation of insecticides or with the use of the same toxicological group (Ortega *et al.*, 1998; Lagunes-Tejeda *et al.*, 2009). Resistance is a dynamic process (Georghiou and Mellon, 1983), thus it appears necessary to carry out a constant monitoring in each agricultural area. The base lines obtained in this study are a reference for monitoring resistance to these insecticides applied against *D. citri*. According to Tiwari *et al.* (2011), in 1998 the presence of *D. citri* was reported in citrus orchards of Florida; after that, the regional management of the pest has been carried out continuously, based on the rational and selective use of insecticides. Management of *D. citri* is feasible based on toxicological groups; therefore, the frequency of application is reduced, the use of mixtures and of insecticides of prolonged environmental persistence is avoided, the most opportune moments are defined for carrying out chemical control actions per region and methods of lower environmental impact are incorporated.

CONCLUSIONS

The Cazonas colony of *D. citri* originally from Cazonas de Herrera, Veracruz, was susceptible to the insecticides endosulfan, dimethoate, imidacloprid, malathion, methomyl, abamectin and lambda-

endosulfán, dimetoato, imidacloprid, malatión, metomilo, abamectina y lambda-cialotrina. La colonia Martínez, de Martínez de la Torre, Veracruz, mostró susceptibilidad a endosulfán, imidacloprid, abamectina, malatión y lambda-cialotrina y resistencia a dimetoato y metomilo.

Las líneas log dosis-Probit de cada insecticida de la colonia Cazonas pueden ser una referencia para la toma de decisiones en el manejo de la resistencia de *D. citri*.

AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo financiero para la realización del estudio como parte del proyecto FONSEC-SAGARPA-CONACYT 2009-108591 "Manejo de la Enfermedad Huanglongbing (HLB) mediante el control de las poblaciones del vector *Diaphorina citri*". A los productores del Ejido La Palma en Martínez de la Torre, Veracruz, por las facilidades para realizar el estudio en sus parcelas y el apoyo logístico en la recolección de insectos.

LITERATURA CITADA

Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.

Boina, D. R., E. O. Onagbola, M. Salyani, and L. L. Stelinski. 2009. Antifeedant and sublethal effects of imidacloprid on Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*. *Pest Manage. Sci.* 65: 870-877.

Burckhardt, D. 2007. Order Sternorrhyncha, superfamily Psylloidea. *Arthropod Fauna UAE* 1: 159-169.

Cortez-Mondaca, E., J. I. López-Arroyo, L. M. Hernández-Fuentes, A. Fu-Castillo, y J. Loera-Gallardo. 2010. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos dulces, en México: Selección de insecticidas y épocas de aplicación. Folleto Técnico No. 35. INIFAP, México. 22 p.

Díaz-Zorrilla, U., H. Cabrera-Mireles, J. A. Villanueva-Jiménez, F. D. Murillo-Cuevas, y J. I. López-Arroyo. 2011. Selección de insecticidas y épocas de aplicación para el control del psílido asiático en limón Persa en Veracruz. Folleto Técnico No. 6. INIFAP, México 16 p.

Finney, D. J. 1971. *Statistical Method in Biological Assay*. Grifing, London. 2nd Ed. 668 p.

Gao, J. R., and K. Y. Zhu. 2000. Comparative toxicity of selected organophosphate insecticides against resistant and susceptible clones of the greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *J. Agric. Food Chem.* 48: 4717-4722.

Georghiou, G. P., and R. B. Mellon. 1983. Pesticide resistance in time and space. In: Georghiou, G. P., and T. Saito (eds). *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum Press, New York. pp: 1-46.

Georghiou, G. P., and C. E. Taylor. 1986. Factors influencing the evolution of resistance. In: *Committee on Strategies for the Management of Pesticide Resistant Pest Populations*, National Research Council (eds). *Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management*. National Academic Press, Washington, D.C. pp: 157-169.

cyhalothrin, The Martínez colony, Martínez de la Torre, Veracruz, showed susceptibility to endosulfan, imidacloprid, abamectin, malathion and lambda-cyhalothrin and resistance to dimethoate and methomyl.

The log dose-Probit lines of each insecticide of the Cazonas colony can be a reference for decision making in the management of resistance of *D. citri*.

—End of the English version—



Halbert, S. E., and K. L. Manjunath. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: A literature review and assessment of risk in Florida. *Fla. Entomol.* 87: 330-353.

Hernández-Fuentes, L. M., M. A. Urias-López, J. I. López-Arroyo, R. Gómez-Jaimes, y N. Bautista-Martínez. 2012. Control químico de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en lima Persa *Citrus latifolia* Tanaka. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 3: 427-439.

IRAC. Insecticide Resistance Action Committee. 2014. Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University. http://www.irac-online.org/content/uploads/modo_de_accion_Oct_11.pdf. (Consulta: agosto 2014).

Lagunes-Tejeda, A., J. C. Rodríguez-Maciél, y J. C. de Loera-Barocio. 2009. Susceptibilidad a insecticidas en poblaciones de artrópodos de México. *Agrociencia* 43: 173-196.

Lagunes-Tejeda, A., y J. A. Villanueva-Jiménez. 1994. Toxicología y Manejo de Insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Montecillo. Texcoco, México. 264 p.

Lewis-Rosenblum, H., X. Martini, S. Tiwari, and L. L. Stelinski. 2015. Seasonal movement patterns and long-range dispersal of Asian citrus psyllid in Florida citrus. *J. Econ. Entomol.* 108: 1-8.

Liu, Z., M. S. Williamson, S. J. Lansdell, I. Denholm, Z. Han, and N. S. Millar. 2005. A nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata lugens* (brown planthopper). *PNAS* 102: 8420-8425.

Mann, S. R, S. Tiwari, J. M. Smoot, L. R. Rouseff, and L. L. Stelinski. 2012. Repellency and toxicity of plant-based essential oils and their constituents against *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *J. Appl. Entomol.* 136: 1-10.

Ortega A., L. D. 1998. Resistencia de *Bemisia argentifolii* a insecticidas: Implicaciones y estrategias de manejo en México. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 49: 10-25.

Ortega A., L. D., A. Lagunes T, J. C. Rodríguez M., C. Rodríguez H., R. Alatorre R, y N. M. Bárcenas O. 1998. Susceptibilidad a insecticidas en adultos de mosquita blanca *Trialeurodes vaporariorum* (West.) (Homoptera: Aleyrodidae) de Tepoztlán, Morelos, México. *Agrociencia* 32: 249-254.

Prabhaker, N., S. Castle., F. Byrne, J. Henneberry, and N. Toscano. 2006. Establishment of baseline susceptibility data to

- various insecticides for *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae) by comparative bioassay techniques. *J. Econ. Entomol.* 99: 141-154.
- Phua, D. H., C. C. Lin, M. L. Wu, J. F. Deng, and C. C. Yang. 2009. Neonicotinoids insecticides: an emerging cause of acute pesticide poisoning. *Clinical Toxicol.* 47: 336-341.
- Robertson, J. L., and H. K. Preisler. 1992. *Pesticide Bioassays with Arthropods*. CRC Press, Boca Raton, Florida. 127 p.
- Robles-González, M. M., J. J. Velázquez-Monreal, M. A. Manzanilla-Ramírez, M. Orozco-Santos, R. Flores-Virgen R, y J. I. López-Arroyo. 2011. Control químico de *Diaphorina citri* en limón Mexicano. Insecticidas convencionales, productos alternativos y épocas de aplicación. Folleto Técnico 1. INIFAP. Campo Experimental Tecomán. Tecomán, Colima, México. 36 p.
- Salcedo, D., R. Hinojosa, G. Mora, I. Covarrubias, F. De Paolis, C. Cántora y S. Mora. 2010. Evaluación del impacto económico de Huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola mexicana. IICA. Oficina del IICA en México. México, D.F. En línea: <http://www.iica.int/Esp/regiones/norte/mexico/Publicaciones%20de%20la%20Oficina/B2009e.pdf> (Consulta: febrero 2014).
- SAS. Statistical Analysis System. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide. Second Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA. 7886 p.
- SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2014. Situación Actual y Perspectivas del Huanglongbing y el Psílido Asiático de los Cítricos en México. <http://www.senasica.gob.mx> (Consulta: febrero 2014).
- Tiwari, S., K. Pelz-Stelinski, and L. Stelinski. 2010. Effect of *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection on susceptibility of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides. *Pest Manage. Sci.* 67: 94-99.
- Tiwari, S., R. S. Mann, M. E. Rogers, and L. L. Stelinski. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. *Pest Manage. Sci.* 67: 1258-1268.
- Tiwari, S., L. L. Stelinski, and M. E. Rogers. 2012. Biochemical basis of organophosphate and carbamate resistance in Asian citrus psyllid. *J. Econ. Entomol.* 105: 540-548.
- Tiwari, S., N. Killiny and L. L. Stelinski. 2013. Dynamic insecticide susceptibility changes in Florida populations of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *J. Econ. Entomol.* 106: 393-399.
- Tomizawa, M., and J. E. Casida. 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu. Rev. Entomol.* 48: 339-364.
- Yang, C. T. 1984. Psyllidae of Taiwan. *Taiwan Museum Special Public. Series 3*: 1-305.
- Zhu, K. Y., and J. R. Gao. 1999. Increased activity associated with reduced sensitivity of acetylcholinesterase in organophosphate resistance greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 68: 138-147.