







Susceptibilidad de *Diaphorina citri* a dimetoato y clorpirifos en huertas cítricas comerciales de Veracruz, México

Susceptibility of *Diaphorina citri* to dimethoate and chlorpyrifos in commercial citrus orchards of Veracruz, Mexico

Suscetibilidade de *Diaphorina citri* a dimetoato e clorpirifós em pomares comerciais de citros de Veracruz, México

Sherell Zamora Juárez¹, Daniel Arturo Rodríguez- Lagunes¹, Francisco Osorio-Acosta^{2*}, Odón Castañeda-Castro¹, Rosalía Núñez-Pastrana¹ y Juan Carlos Noa-Carrazana³

¹Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, carretera Peñuela Amatlán, km 177, Córdoba, Veracruz, México CP. 94500. Correos electrónicos: (SZ) shezamoraj@gmail.com,  (DR) darodriguez@uv.mx,  (OC) odcastaneda@uv.mx, ; (RN) ronunez@uv.mx, . ²Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, carretera Xalapa-Veracruz, km 88.5, Tepetates municipio de Manlio Fabio Altamirano, Veracruz, México C.P. 91690. Correo electrónico: (FO) fosorioa@colpos.mx; . ³Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, av. de las culturas Veracruzananas 101, colonia Emiliano Zapata, Xalapa, Veracruz, México, CP 91090. Correo electrónico: (JN) jnoa@uv.mx, .

Resumen

En el estado de Veracruz se tienen reportes de resistencia a clorpirifos y dimetoato en poblaciones de *Diaphorina citri* por el uso excesivo de estos productos para el control de plagas, entre ellas *D. citri*. En este estudio se realizó un diagnóstico de la susceptibilidad de adultos de *D. citri* a clorpirifos y dimetoato, en huertas de cítricos comerciales del municipio de Martínez de la Torre, Veracruz. Para ello, en 30 huertas se colectaron 200 adultos de *D. citri* por huerta y se realizaron bioensayos de aplicación tópica con dimetoato a una concentración de 0,0090% y clorpirifos a una concentración de 0,0085%. Como testigo se utilizaron adultos de *D. citri* que no han sido expuestos a control químico durante 10 años. Los resultados de dimetoato y clorpirifos indicaron un

Recibido el 15-12-2020 • Aceptado el 25-02-2021.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico: fosorioa@colpos.mx

promedio de mortalidad de *D. citri* del 85%, en comparación con el testigo susceptible que presentó 99,3% y 98,8% de mortalidad con dimetoato y clorpirifos, respectivamente. Con base en esto se infiere que, en huertas de Martínez de la Torre, Veracruz existe cierto nivel de resistencia de *D. citri* a insecticidas organofosforados. Esta información permite definir el tipo de productos químicos a usar en la zona de estudio.

Palabras clave: organofosforados, susceptibilidad, presión de selección.

Abstract

There are reports of *Diaphorina citri* resistance in the state of Veracruz to chlorpyrifos and dimethoate due to the excessive use of these products for the control of pests, among them *D. citri*. The purpose of this work was to diagnose the susceptibility of *D. citri* adults to chlorpyrifos and dimethoate in commercial citrus orchards of the municipality of Martínez de la Torre, Veracruz. For this, 200 adults of *D. citri* were collected in each of 30 orchards, and topical application bioassays were performed with dimethoate at 0.0090% concentration and chlorpyrifos at 0.0085% concentration. *Diaphorina citri* adults without chemical control during 10 years were used as a control. Mortality of *D. citri* with dimethoate and chlorpyrifos averaged 85%, in contrast the control mortality was 99% and 98.8% with dimethoate and chlorpyrifos, respectively. According to these results, it can be inferred that *D. citri* has some resistance to organophosphate insecticides in the orchards of Martínez de la Torre, Veracruz. This information can be used to decide the type of insecticides to apply in the study area.

Key words: organophosphates, susceptibility, selection pressure.

Resumo

No estado de Veracruz há relatos de resistência ao clorpirifos e dimetoato em populações de *Diaphorina citri* devido ao uso excessivo desses produtos para o controle de pragas, entre elas *D. citri*. Neste estudo, foi realizado um diagnóstico da susceptibilidade de adultos de *D. citri* ao clorpirifós e ao dimetoato em pomares comerciais de citros do município de Martínez de la Torre, Veracruz. Para isso, em 30 pomares foram coletados 200 adultos de *D. citri* por horta e bioensaios de aplicação tópica com dimetoato na concentração de 0,0090% e clorpirifós na concentração de 0,0085%. Como controle, foram utilizados adultos de *D. citri* que não foram expostos ao controle químico por 10 anos. Os resultados de dimetoato e clorpirifós indicaram mortalidade média de *D. citri* de 85%, em comparação com o controle suscetível que apresentou mortalidade de 99% e 98,8% com dimetoato e clorpirifós, respectivamente. Com base nisso, infere-se que nos pomares de Martínez de la Torre, Veracruz, existe um certo nível de resistência de *D. citri* aos inseticidas organofosforados. Essas informações permitem definir os tipos de produtos químicos a serem utilizados na área de estudo.

Palavras-chave: organofosforados, suscetibilidade, pressão de seleção.

Introducción

El psilido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri* Kuwayama) está presente en los 24 estados citrícolas de México y se encuentra en monitoreo constante (SENASICA, 2019), principalmente por ser vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) que causa el Huanglongbing (HLB), enfermedad crítica para la citricultura (Halbert and Manjunath, 2004). En México se estimaron pérdidas de 41,1% de la producción (IICA, 2010) por causa de esta enfermedad; por lo que, en cada uno de los estados se ha establecido una estrategia de manejo integrado denominada Áreas de Manejo Epidemiológico Fitosanitario (AMEFIs). Esta estrategia establece lineamientos para el manejo de *D. citri*, entre los que incluye el uso racional de insecticidas sintéticos en una superficie amplia en épocas biológicamente justificadas, con lo que se busca disminuir la dispersión del HLB y retrasar la resistencia de *D. citri* por el uso intensivo y mal manejo de químicos sintéticos (SENASICA, 2019).

A pesar de lo anterior, se reporta resistencia de *D. citri* a insecticidas en las entidades más representativas en la producción de cítricos en México; por ejemplo, en Michoacán en el año 2013 se reportó resistencia a los neonicotinoides (Vázquez-García *et al.*, 2013), y pérdida de susceptibilidad a organofosforados (Villanueva-Jiménez *et al.*, 2019); en Veracruz a organofosforados (García-Méndez *et al.*, 2016; 2019) y en Colima a

Introduction

The Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) is present in the 24 citrus growing states of Mexico and is under constant monitoring (SENASICA, 2019), mainly because it is a vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter asiaticus* (CLas) that causes Huanglongbing (HLB), a critical disease for citriculture (Halbert and Manjunath, 2004). In Mexico, losses of 41.1% of the production were estimated (IICA, 2010) due to this disease; therefore, an integrated management strategy denominated Phytosanitary Epidemiological Management Areas (AMEFIs) has been established in each of the states. This strategy establishes guidelines for the management of *D. citri*, including the rational use of synthetic insecticides over a wide area in biologically justified seasons, which seeks to reduce the spread of HLB and delay the resistance of *D. citri* due to the intensive use and mismanagement of synthetic chemicals (SENASICA, 2019).

Despite the above, the resistance of *D. citri* to insecticides has been reported in the most representative entities in the production of citrus fruits in Mexico; for example, in Michoacán in 2013, the resistance to neonicotinoids was reported (Vázquez-García *et al.*, 2013), and the loss of susceptibility to organophosphates (Villanueva-Jiménez *et al.*, 2019); in Veracruz to organophosphates (García-Méndez *et al.*, 2016; 2019) and in Colima to pyrethroids (Pardo *et al.*, 2018). In the central zone of Veracruz state,

piretroides (Pardo *et al.*, 2018). En la zona centro del estado de Veracruz, los principales grupos toxicológicos que se utilizan en las huertas cítricas para el control de *D. citri* son organofosforados, carbamatos, neonicotinoides y piretroides (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). En el municipio de Martínez de la Torre se reportó pérdida de susceptibilidad en ninfas de *D. citri* a clorpirifos combinado con aceite parafínico (Pérez-Zarate *et al.*, 2016) y en poblaciones de adultos se reporta resistencia a clorpirifos y dimetoato del grupo de organofosforados (García-Méndez *et al.*, 2016). Durante el 2018 en los municipios de Martínez de la Torre y Álamo, se registró baja mortalidad de *D. citri* a los mismos insecticidas (Osorio *et al.*, 2018, García-Méndez *et al.*, 2019) a pesar de que clorpirifos y dimetoato están prohibidos en la agricultura mexicana (Bejarano, 2017). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue diagnosticar la susceptibilidad de adultos de *D. citri* a clorpirifos y dimetoato en huertas de cítricos comerciales del municipio de Martínez de la Torre, Veracruz.

Material y Métodos

Poblaciones de *D. citri* de invernadero

La colonia susceptible de *D. citri* fue proporcionada por el Dr. Juan A. Villanueva Jiménez del Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, y establecida en la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Veracruzana. La colonia no se encuentra sujeta

the main toxicological groups used in the citrus orchards to the control of *D. citri* were organophosphates, carbamates, neonicotinoids and pyrethroids (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). In the municipality of Martínez de la Torre, a loss of susceptibility in nymphs of *D. citri* to chlorpyrifos combined with paraffinic oil was reported (Pérez-Zarate *et al.*, 2016) and in adult populations a resistance to chlorpyrifos and dimethoate of the organophosphate group was reported (García-Méndez *et al.*, 2016). During 2018 in the municipalities of Martínez de la Torre and Álamo, a low mortality of *D. citri* to the same insecticides was recorded (Osorio *et al.*, 2018, García-Méndez *et al.*, 2019) despite the fact that chlorpyrifos and dimethoate are prohibited in Mexican agriculture (Bejarano, 2017). Therefore, the objective of the present study was to diagnose the susceptibility of *D. citri* adults to chlorpyrifos and dimethoate in commercial citrus orchards in the municipality of Martínez de la Torre, Veracruz.

Materials and methods

Greenhouse populations of *D. citri*

The susceptible colony of *D. citri* was provided by Dr. Juan A. Villanueva Jiménez of the Postgraduate College, Veracruz Campus, and it was established in the Faculty of Biological and Agricultural Sciences of the Veracruzana University. The colony has not been subjected to selection pressure with any insecticide

a presión de selección con ninguna aplicación de insecticidas desde hace 10 años. La colonia se reproduce sobre plantas de lima Persa (*C. latifolia* Tanaka ex Jiménez), en un ambiente de invernadero ($25 \pm 5^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ de humedad relativa y fotoperiodo natural).

Poblaciones de *D. citri* de campo

Los insectos de campo de *D. citri* se colectaron en 30 huertas comerciales de lima Persa y naranja valencia [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], ubicadas en la AMEFI del municipio de Martínez de la Torre, Veracruz, en el mes de octubre del año 2019 (Cuadro 1); la colecta de los adultos se llevó a cabo sin separación de sexos, colectando 240 adultos de *D. citri* por huerta, con aspiradores manuales elaborados con micropipetas de 1 mL (ThermoScientific®), con la punta cortada y la base sellada con tela de organza, en la cual se adaptó una manguera (García-Méndez *et al.*, 2016). Para mantener los insectos en cada aspirador se selló la punta de las micropipetas con Parafilm y se transportaron al laboratorio en una hielera a temperatura ambiente.

Insecticidas

Los insecticidas evaluados fueron clorpirifos y dimetoato grado técnico, a una dosis letal 95 (DL_{95}) para poblaciones de *D. citri*; la dosis para dimetoato fue de $7,50 \text{ ng.insecto}^{-1}$ (ng: nanogramos de ingrediente activo) a una concentración de 0,0090% y clorpirifos $5,68 \text{ ng.insecto}^{-1}$ a una concentración de 0,0085% (García-Méndez *et al.*, 2016).

application for 10 years. The colony reproduces on Persian lime plants (*C. latifolia* Tanaka ex Jiménez), in a greenhouse environment ($25 \pm 5^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ relative humidity and natural photoperiod).

Field populations of *D. citri*

The field insects of *D. citri* were collected in 30 commercial orchards of Persian lime and orange Valencia [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], located in AMEFI of Martínez de la Torre municipality, Veracruz, in October 2019 (Table 1); the collection of adults was carried out without separation of sexes, collecting 240 adults of *D. citri* per orchard, with manual aspirators made with 1 mL micropipettes (ThermoScientific®), with the cut off tip and the base sealed with organza fabric, to which a hose was adapted (García-Méndez *et al.*, 2016). To keep the insects in each aspirator, the tips of the micropipettes were sealed with Parafilm and transported to the laboratory in a cooler at room temperature.

Insecticides

Chlorpyrifos and dimethoate technical grade insecticides were evaluated at a lethal dose 95 (LD_{95}) for *D. citri* populations; the dose for dimethoate was $7.50 \text{ ng.insect}^{-1}$ (ng: nanograms of active ingredient) at a concentration of 0.0090% and chlorpyrifos $5.68 \text{ ng.insect}^{-1}$ at a concentration of 0.0085% (García-Méndez *et al.*, 2016).

Bioassay

The bioassays made for the greenhouse insects (susceptible control) and those collected from the field were applied topically using the

Cuadro 1. Georreferenciación de huertas donde se realizaron las colectas de *Diaphorina citri* en el municipio de Martínez de la Torre, Veracruz.

Table 1. Georeferencing of orchards where *Diaphorina citri* collections were made in the municipality of Martínez de la Torre, Veracruz.

Localidad	AMEFIs	Coordenadas	Especie cultivada
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 03)	N20.23103° W-97.08966°	<i>Citrus sinensis</i>
Balsas de Agua	02(Ruta 03)	N20.22425° W-97.10181°	<i>Citrus sinensis</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 04)	N20.23031° W-97.07307°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 04)	N20.22640° W-97.06635°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 04)	N20.22101° W-97.06224°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 04)	N20.20812° W-97.06419°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 04)	N20.19469° W-97.06955°	<i>Citrus latifolia</i>
La Palma	02(Ruta 05)	N20.18268° W-97.06653°	<i>Citrus latifolia</i>
La Palma	02(Ruta 05)	N20.17573° W-97.06535°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>
Finca Flor de María	02(Ruta 05)	N20.11109° W-97.12620°	<i>Citrus latifolia</i>
Finca Flor de María	02(Ruta 05)	N20.09076° W-97.08648°	<i>Citrus latifolia</i>
Finca Flor de María	02(Ruta 05)	N20.02929° W-97.12811°	<i>Citrus latifolia</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 01)	N20.25300° W-97.05620°	<i>Citrus sinensis</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 01)	N20.25702° W-97.02319°	<i>Citrus sinensis</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 01)	N20.26144° W-97.06895°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 02)	N20.25337° W-97.06944°	<i>Citrus latifolia</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 02)	N20.24586° W-97.07159°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>
Colonia Agrícola Suriana	02(Ruta 02)	N20.24045° W-97.07713°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 05)	N20.19460° W-97.06951°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 05)	N20.18830° W-97.06863°	<i>Citrus sinensis</i>
La Palma	02(Ruta 02)	N20.18255° W-97.06546°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Blanco	02(Ruta 05)	N20.20203° W-97.06850°	<i>Citrus latifolia</i>
Loma de las Flores	02(Ruta 03)	N20.02637° W-97.04576°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>
Loma de las Flores	02(Ruta 03)	N20.02890° W-97.04537°	<i>Citrus latifolia</i>
Loma de las Flores	02(Ruta 03)	N20.02927° W-97.04425°	<i>Citrus latifolia</i>
Loma de las Flores	02(Ruta 03)	N20.03127° W-97.04528°	<i>Citrus latifolia</i>
Arroyo Fierro	02(Ruta 05)	N19.99213° W-97.00603°	<i>Citrus latifolia</i>
El Refugio	02(Ruta 04)	N19.99037° W-96.96737°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>
Rancho Cano	02(Ruta 04)	N19.98729° W-96.96334°	<i>Citrus latifolia</i>
Rancho Cano	02(Ruta 04)	N19.99503° W-96.95990°	<i>Citrus latifolia-Citrus sinensis</i>

AMEFIs: Áreas de Manejo Epidemiológico Fitosanitario.

AMEFIs: Phytosanitary Epidemiological Management Areas.

Bioensayo

Los bioensayos realizados para los insectos de invernadero (testigo susceptible) y los colectados de campo fueron de aplicación tópica utilizando el método descrito por Tiwari *et al.* (2011) y García-Méndez *et al.* (2019). Los insectos se mantuvieron en ayuno durante aproximadamente dos horas y se colocaron en una bolsa Ziploc®, para anestésarlos con dióxido de carbono (CO₂) durante 35 segundos (Mann *et al.*, 2012), para facilitar la aplicación del insecticida. Los adultos anestesiados se colocaron en cajas Petri de 4 cm de diámetro, previamente preparadas con una base de agar-agar (Merck®) de 3 mm al 1,5 %, sobre la base de agar-agar se añadió un pedazo de hoja de cítrico en forma de disco con el envés expuesto del mismo diámetro que las cajas Petri. Inmediatamente con una jeringa para cromatografía Hamilton® de 10 µL, acoplada a un microaplicador (Hamilton®) modelo PB-600 para bioensayos tópicos, se aplicó 0,2 µL de insecticida en el pronoto de cada insecto. Después se colocó la tapa de la caja Petri, a la que se le hizo una abertura circular cubierta con tela de organza, para controlar la aireación. De los insectos colectados en campo se colocaron en grupos de 20 por caja con un total de cinco cajas por huerta para cada insecticida, esto resulta en un total de 100 insectos por insecticida por huerta. Los 40 insectos colectados por huerta para utilizarlos en el tratamiento sin insecticida fueron tratados con 0,2 µL de acetona (Robertson *et al.*, 2017). Para la prueba en la colonia de invernadero, considerada susceptible,

method described by Tiwari *et al.* (2011) and García-Méndez *et al.* (2019). Insects were fasted for approximately two hours and placed in a Ziploc® bag and anesthetized with carbon dioxide (CO₂) for 35 seconds (Mann *et al.*, 2012) to facilitate the insecticide application. The anesthetized adults were placed in Petri dishes of 4 cm of diameter, previously prepared with a 3 mm agar-agar base (Merck®) at 1.5 %, on the agar-agar base, a piece of citrus leaf in the form of a disk with exposed underside of the same diameter as the Petri dishes was added. Immediately with a 10 µL Hamilton® chromatography syringe, coupled to a microapplicator (Hamilton®) model PB-600 for topical bioassays, 0.2 µL of insecticide was applied to the pronotum of each insect. After, the lid of the Petri dish was placed, with a circular opening covered with organza fabric to control the aeration. The insects collected in the field were placed in groups of 20 per box with a total of five boxes per orchard for each insecticide, resulting in a total of 100 insects per insecticide per orchard. The 40 insects collected per orchard for use them in the non-insecticide treatment were treated with 0.2 µL of acetone (Robertson *et al.*, 2017). For the test in the greenhouse colony, considered susceptible, 20 insects per box were placed, for a total of 30 dishes per insecticide at the same doses; for the test without insecticide (with technical grade acetone), five boxes with 20 insects each were used. For all the tests, mortality readings were taken 24 hours after the treatments were applied; insects that did not

se colocaron 20 insectos por caja, en un total de 30 cajas por insecticida a las mismas dosis; para la prueba sin insecticida (con acetona grado técnico) se utilizaron cinco cajas con 20 insectos cada una. Para todas las pruebas se realizó la lectura de mortalidad 24 horas después de aplicados los tratamientos, los insectos que no mostraron movimiento al ser estimulados con un pincel de punta fina, se consideraron muertos.

Análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar, los datos se analizaron con el software Statistica versión 8,0 (2007); se realizó una ANOVA y una prueba de Tukey con un intervalo de confianza de $\alpha=0,05$. La mortalidad de los insectos de campo (9,5%) y cría susceptible (3,1%) con la aplicación de acetona, se utilizó para obtener la mortalidad corregida de cada uno de los insecticidas aplicando la fórmula de Abbott (1925). El nivel máximo de mortalidad aceptable en el testigo sin insecticida es 12% (Finney, 1971).

Resultados y discusión

El análisis de varianza mostró diferencia estadística ($p<0,0001$) entre tratamientos, la prueba de medias de Tukey ($\alpha=0,05$) indicó que existe diferencia en la mortalidad entre los insectos de invernadero (testigo susceptible) y los de campo con el dimetoato y el clorpirifos, pero no entre los dos insecticidas con los insectos de campo ($p\leq 0,99$) (Cuadro

show movement when stimulated with a fine-tipped brush were considered dead.

Statistical Analysis

The experimental design was completely randomized, the data were analyzed with the Statistica software version 8.0 (2007); an ANOVA and a Tukey test with a confidence interval of $\alpha=0.05$ was performed. The mortality of the field insects (9.5%) and susceptible brood (3.1%) with the application of acetone was used to obtain the corrected mortality of each of the insecticides by applying the Abbott formula (1925). The maximum level of acceptable mortality in the control without insecticide is 12% (Finney, 1971).

Results and discussion

The analysis of variance showed statistical difference ($p<0.0001$) between treatments, Tukey's mean test ($\alpha=0.05$) indicated that there is a difference in the mortality among the greenhouse insects (susceptible control) and those from the field with dimethoate and chlorpyrifos, but not between the two insecticides with field insects ($p\leq 0.99$) (Table 2). The adults of *D. citri* showed susceptibility very similar in the orchards with both insecticides, the mode of action of organophosphates in the insect has repercussions on the nervous and muscular system, with a tendency for rapid action, which is the reason why it generates an alarming percentage of loss of susceptibility and generation of resistance (IRAC, 2020).

2). Los adultos de *D. citri* mostraron una susceptibilidad muy similar en las huertas con ambos insecticidas, el modo de acción de los organofosforados en el insecto repercute en el sistema nervioso y muscular, con tendencia a una acción rápida, es la razón por la que genera un alarmante porcentaje de pérdida de susceptibilidad y generación de resistencia (IRAC, 2020).

Mortality with dimethoate

The mortality average of dimethoate was 85%, in contrast the susceptible brood presented 99.2% of mortality, and this shows a difference of 14% ($p \leq 0.000008$). The highest percentage of *D. citri* mortality was 92% in the orchard number 2, and the orchards with the lowest percentage of mortality were 20 and 23, with a mortality of 73 and 78%, respectively

Cuadro 2. Prueba de medias de Tukey para la mortalidad de *D. citri* de poblaciones de campo y el testigo susceptible con dimetoato y clorpirifos.

Table 2. Tukey’s mean test for *D. citri* mortality of field populations and the control susceptible to dimethoate and chlorpyrifos.

Colonia/Insecticida	Media	Colonia/Insecticida	Probabilidad
Susceptible/dimetoato	99,2	Susceptible/clorpirifos	0,99
Susceptible/dimetoato	99,2	Campo/dimetoato	0,000008
Susceptible/clorpirifos	98,8	Campo/dimetoato	0,000008
Susceptible/clorpirifos	98,8	Campo/clorpirifos	0,000008
Campo/dimetoato	85,2	Campo/clorpirifos	0,99
Campo/clorpirifos	85	Susceptible/dimetoato	0,000008

Mortalidad con dimetoato

El promedio de la mortalidad del dimetoato fue de 85%, en contraste la cría susceptible presentó un 99,2% de mortalidad, esto muestra una diferencia de un 14% ($p \leq 0.000008$). El mayor porcentaje de mortalidad de *D. citri* fue de 92% en la huerta número 2 y las huertas con menor porcentaje de mortalidad fueron la 20 y 23, con una mortalidad de 73 y 78%, respectivamente (Figura 1). Estos datos corroboran la prevalencia de la resistencia en generaciones actuales de *D. citri* por el manejo de insecticidas organofosforados de años

(Figure 1). These data corroborate the prevalence of the resistance in current generations of *D. citri* due to the management of organophosphate insecticides from previous years. The dimethoate was used in Mexico for the control of sucking insects several decades ago (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012), because it was recommended in technical brochures by the Federal Government. There it was emphasized that dimethoate only had to be applied once a year and not overuse the doses, in order to prevent the generation of resistant insects (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011).

anteriores. El dimetoato fue utilizado en México para el control de insectos chupadores ya hace varias décadas (Hernández-Fuentes *et al.*, 2012), porque fue recomendado en folletos técnicos por el Gobierno Federal. Allí se destacaba que el dimetoato solo se tenía que aplicar una vez por año y no abusar de las dosis, para prevenir la generación de insectos resistentes (Córtez-Mondaca *et al.*, 2010; Díaz-Zorrilla *et al.*, 2011). El dimetoato degrada una enzima importante del sistema nervioso del insecto (acetilcolinesterasa) de modo que puede crear resistencia cruzada con insecticidas que comparten el mecanismo de acción, esto es común entre compuestos organofosforados y carbamatos resultando en una resistencia cruzada (Tiwari *et al.*, 2012).

García-Méndez *et al.* (2019) reportaron un promedio del 79,72% de mortalidad en adultos de *D. citri* en zonas de Martínez de la Torre, Veracruz para dimetoato, este dato es cercano al obtenido en este estudio (85%), por lo que podemos deducir que generaciones de *D. citri* de la zona aún mantienen niveles de tolerancia a éstos insecticidas.

Mortalidad con clorpirifos

El promedio de mortalidad de *D. citri* para clorpirifos fue igual al dimetoato con un 85%, la mortalidad varió de 77% al 95%. La cría susceptible presentó un 98,8% de mortalidad, la diferencia con los insectos de campo fue de 13,8% ($p \leq 0,000008$) (Figura 2). Aunque en una huerta se observó la mortalidad mínima esperada del 95%, el promedio general fue bajo, esto indica

Dimethoate degrades an important enzyme of the insect nervous system (acetylcholinesterase) so that it can create cross-resistance with insecticides that share the mechanism of action; this is common between organophosphorus compounds and carbamates resulting in cross-resistance (Tiwari *et al.*, 2012).

García-Méndez *et al.* (2019) reported a mortality average of 79.72% in adults of *D. citri* in zones of Martínez de la Torre, Veracruz for dimethoate, this data is close to that obtained in this study (85%), and therefore we can deduce that the generations of *D. citri* of the area still maintain the tolerance levels to these insecticides.

Chlorpyrifos mortality

The mortality average of *D. citri* for chlorpyrifos was equal to dimethoate at 85%, mortality ranged from 77% to 95%. The susceptible brood presented 98.8% of mortality, the difference with the field insects that was 13.8% ($p \leq 0.000008$) (Figure 2). Although the minimum expected mortality of 95% was observed in one orchard, the overall average was low; this indicates a natural variability in the insect. The resistance of *D. citri* to chlorpyrifos and dimethoate has been reported since 2013 in orchards in Florida, United States and Pakistan (Tiwari *et al.*, 2013; Naeem *et al.*, 2016), due to it was a widely used product for the control of *D. citri*. In Mexico the constant use of this toxicological group is totally linked to the development of resistant populations as has been demonstrated in the central zone of Veracruz and the state of Michoacán (Vázquez-García *et al.*, 2013; García-

una variabilidad natural en el insecto. La resistencia de *D. citri* a clorpirifos y dimetoato se ha reportado desde el año 2013 en huertas de Florida, Estados Unidos y Pakistán (Tiwari *et al.*, 2013; Naeem *et al.*, 2016), ya que fue un producto muy utilizado para el control de *D. citri*. En México el uso constante de este grupo toxicológico está totalmente ligado al desarrollo de poblaciones resistentes como se ha demostrado en la zona centro de Veracruz y del estado de Michoacán (Vázquez-García *et al.*, 2013; García-Méndez *et al.*, 2016). Los insecticidas del grupo toxicológico de organofosforados son los más utilizados en la citricultura por ser fáciles de conseguir, baratos y recomendados por las casas productoras por su eficacia (Means, 2013).

Méndez *et al.*, 2016). Insecticides of the organophosphate toxicological group are the most widely used in citriculture because they are easy to obtain, cheap and recommended by company for their efficacy (Means, 2013).

In Martínez de la Torre, the mortality in nymphs of *D. citri* was monitored in different years, resulting in resistance to two types of synthetic insecticides of the organophosphate group: chlorpyrifos and dimethoate (García-Méndez *et al.*, 2016; 2019). In a similar study in Martínez de la Torre and Álamo, loss of susceptibility in adults of *D. citri* to chlorpyrifos and dimethoate was reported (Osorio-Acosta *et al.*, 2018), subsequently the resistance

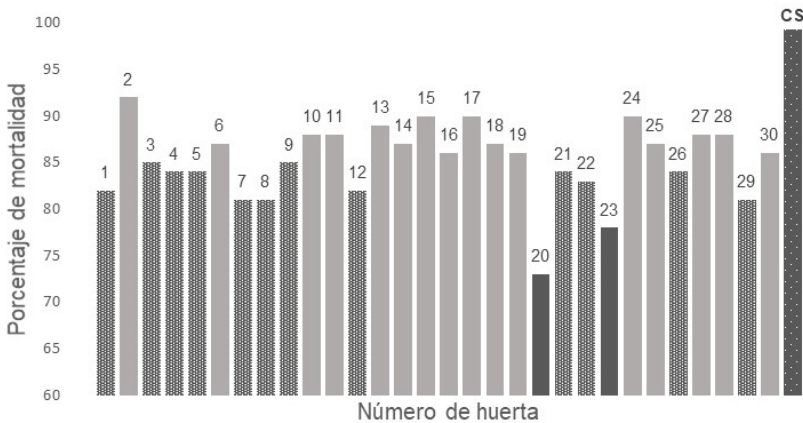


Figura 1. Porcentaje de mortalidad de dimetoato en poblaciones de *D. citri* en 30 huertas ubicadas en la zona centro del estado de Veracruz. CS=Cría susceptible.

Figure 1. Percentage of dimethoate mortality in populations of *D. citri* in 30 orchards located in the central zone of the state of Veracruz. CS=Susceptible brood.

En Martínez de la Torre se monitoreó la mortalidad en ninfas de *D. citri* en diferentes años dando como resultado la resistencia a dos tipos de insecticidas sintéticos del grupo de organofosforados: clorpirifos y dimetoato (García-Méndez *et al.*, 2016; 2019). En un estudio similar en Martínez de la Torre y Álamo se reportó pérdida de susceptibilidad en adultos de *D. citri* a clorpirifos y dimetoato (Osorio-Acosta *et al.*, 2018), posteriormente se confirmó la resistencia a clorpirifos en el estado de Veracruz (Villanueva-Jiménez *et al.*, 2019); por lo cual se puede inferir que las poblaciones *D. citri* de campo siguen mostrando poca susceptibilidad al grupo toxicológico de organofosforados después de cuatro años.

to chlorpyrifos was confirmed in the state of Veracruz (Villanueva-Jiménez *et al.*, 2019); therefore, it can be inferred that the field *D. citri* populations continue to show the low susceptibility to the toxicological group of organophosphates after four years.

It is well established that the resistance does not evolve at the same rate in all the species or populations. The resistance can develop rapidly in some populations and slowly in others (Georghiou, 1994). The constant application of synthetic insecticides in the citrus-growing area of the state of Veracruz, has led to decrease the effectiveness of different toxicological groups, such as with organophosphates which share the resistance mechanism P450 cytochrome of cytochrome and

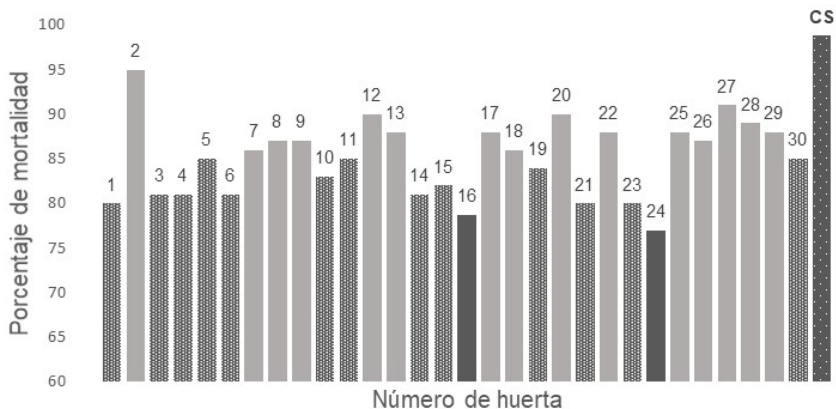


Figura 2. Porcentaje de mortalidad de clorpirifos en poblaciones de *D. citri* en 30 huertas ubicadas en la zona centro del estado de Veracruz. CS=Cría susceptible.

Figure 2. Mortality percentage of chlorpyrifos in populations of *D. citri* in 30 orchards located in the central zone of the state of Veracruz. CS= Susceptible brood.

Está bien establecido que la resistencia no evoluciona al mismo ritmo en todas las especies o poblaciones. La resistencia puede desarrollarse rápidamente en algunas poblaciones y lentamente en otras (Georghiou, 1994). La aplicación constante de insecticidas sintéticos en la zona citrícola del estado de Veracruz, ha llevado a disminuir la efectividad de distintos grupos toxicológicos, como con los organofosforados los cuales comparten con los carbamatos el mecanismo de resistencia del citocromo P450 del citocromo y glutatión-S-transferasas (GTS) (Ortega *et al.*, 1998; Tiwari *et al.*, 2011).

Conocer la susceptibilidad que tiene el insecto vector a diferentes insecticidas, sirve como base en la toma de decisiones para buen manejo de insecticidas sintéticos, el control de la plaga y así evitar la resistencia cruzada, garantizando la efectividad del producto que se aplique, ya sea de base sintética o natural.

Conclusiones

La mortalidad promedio de *D. citri* obtenida con el dimetoato y clorpirifos fue baja considerando que fue una aplicación tópica a una DL_{95} , por lo que se puede considerar que la población de campo estudiada presenta cierto nivel de resistencia; comparado con la colonia de invernadero (susceptible) que presentó una mortalidad cercana al 100% para las mismas dosis de insecticidas. Existen diferentes niveles de susceptibilidad de *D. citri* en el área de estudio, esto queda evidenciado por las diferencias en mortalidad en las diferentes huertas.

glutathione-S-transferasas (GTS) with carbamates (Ortega *et al.*, 1998; Tiwari *et al.*, 2011).

Knowing the susceptibility of the vector insect to different insecticides serves as a basis for decision making for good management of synthetic insecticides, pest control and thus avoiding cross-resistance, ensuring the effectiveness of the product applied, either synthetic or natural based.

Conclusions

The average mortality obtained of *D. citri* with the dimethoate and chlorpyrifos was low, considering that it was a topical application at a DL_{95} , therefore, it can be considered that the field population studied presents a certain resistance level; compared to the greenhouse colony (susceptible) that presented a mortality close to 100% for the same doses of insecticides. There are different levels of susceptibility of *D. citri* in the area under study; this is evidenced by the differences in mortality of the different orchards. The level of susceptibility of *D. citri* to organophosphates can affect the new products with the same mode of action, so these values can be used as reference for future studies about loss of susceptibility.

End of English Version

El nivel de susceptibilidad de *D. citri* a los organofosforados puede afectar a nuevos productos con el mismo modo de acción, así que estos valores pueden ser utilizados como referencia para estudios posteriores de pérdida de susceptibilidad.

Literatura citada

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Bejarano, F. G. Los Plaguicidas Altamente Peligrosos en México. 2017. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, A. C. (RAPAM). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/319515704_Los_Plaguicidas_Altamente_Peligrosos_en_Mexico. Fecha de consulta: noviembre 2020.
- Córtez-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 de psílido asiático en limón persa en Veracruz. Folleto técnico No. 6. INIFAP, México, 16 p. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/338633525_Seleccion_de_Insecticidas_y_Epocas_de_Aplicacion_para_el_Control_del_Psilido_Asiatico_en_Limon_Persa_en_Veracruz. Fecha de consulta: Noviembre 2020
- Finney, D. J. 1971. *Statistical Method in Biological Assay*. Griffing, London. 2nd Ed. 668.
- García-Méndez, V. H., L. D. Ortega-Arenas, J. A. Villanueva-Jiménez y H. Sánchez-Arroyo. 2016. Susceptibilidad de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) a insecticidas en Veracruz, México. *Agrociencia*, 50: 335- 365.
- García-Méndez, V. H., L. D. Ortega-Arenas, J. A. Villanueva-Jiménez y F. Osorio-Acosta. 2019. Resistencia de *Diaphorina citri* Kuwayama a Insecticidas en Cinco Áreas Regionales de Control en México. *Southw. Entomol.* 44: 947-954.
- Georghiou, G. 1994. Principles of insecticide resistance management. *Phytoprotection*, 75(4), 51–59. <https://doi.org/10.7202/706>
- Halbert, S. E.; Manjunath, K. L. 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. Mexicana cienc. agríc.* 3:427-439.
- IICA. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. 2010. Evaluación del impacto económico de la enfermedad de los cítricos HLB (greening) en la cadena cítrica mexicana. Disponible en: <http://www.cofemersimir.gob.mx/expediente/12025/mir/31228/anexo/879544>. Fecha de consulta: septiembre 2020.
- IRAC. Insecticide resistance action committee. 2020. IRAC Mode of Action Classification Scheme. Disponible en: https://irac-online.org/content/uploads/modo_de_%20accion_%20Oct%2011.pdf. Fecha de consulta: noviembre 2020.
- 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: 87-96.
- Means, C. 2013. Organophosphate and carbamate insecticides. In P.A. Talcott and S. W. B. Saunders [eds.], *Small Animal Toxicology*, 3rd ed. Elsevier, Saint Louis, MO. pp. 715-724
- Naeem, A., S. Freed, F. L. Jin, M. Akmal, and M. Mehmood. 2016. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan. *Crop Prot.* 86: 62-68.

- 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.
- Osorio-Acosta F., J. A. Villanueva-Jiménez, L. D. Ortega-Arenas, V. H. García-Méndez, U. Díaz-Zorrilla, J. Luna-Olivares, S. Zamora-Juárez, R. José-Pablo, G. Luna-Olivares y R. L. Aguirre-Hernández. 2018. Resultados del programa nacional de monitoreo de la resistencia al vector del HLB en los estados citrícolas de México Avances en Investigación Agrícola, Pecuaria, Forestal, Acuicola, Pesquería, Desarrollo rural, Transferencia de tecnología, Biotecnología, Ambiente, Recursos naturales y Cambio climático. 1791-1799. Disponible en: <http://rctveracruz.org/assets/files/AvancesInvestigacionRC2018.pdf>. Fecha de consulta: Noviembre 2020
- Pardo, S., M. Martínez A., I. Figueroa J., M. Chavarrieta J., E. Viñuela, A. Rebollar A., A. M. Miranda, J. Valle, and S. Pineda. 2018. Insecticide resistance of adults and nymphs of Asian citrus psyllid populations from Apatzingán Valley, Mexico. *Pest Manag. Sci.* 74: 135-140.
- Pérez-Zarate L. A., F. Osorio-Acosta, J. A. Villanueva-Jiménez, L. D. Ortega-Arenas, R. G. Chiquito-Contreras. 2016. Factores que Inciden en el Control Químico de *Diaphorina citri* Kuwayama en Áreas Regionales de Control. *Southw. Entomol*, 41:1037-1050.
- Robertson, J. L., M. Jones M., E. Olguín E., and B. Alberts. 2017. *Pesticide Bioassays with Arthropods*. 3rd ed. CRC Press, FL. Disponible en: <https://www.crcpress.com/Bioassays-with-Arthropods/Robertson-Jones-Olguin-Alberts/p/book/97814822>. Fecha de consulta: Noviembre 2020
- SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. 2019. Manual operativo de la campaña contra plagas reglamentadas de los cítricos. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/455772/Manual_Operativo_Plagas_de_los_Citricos_2019.pdf. Fecha de consulta: noviembre 2020.
- Statistica, 2007. Data analysis software system 2007 versión 8.0. www.statsoft.com
- Tiwari, S., K. Pelz, R. Manny, and L. L. Stelinski. 2011. Glutathione transferase and cytochrome P450 (general oxidase) activity levels in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-infected and uninfected Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 104: 297-305.
- 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.
- Vázquez-García, M., J. J. Velázquez M., M. Medina V., D. Cruz C., M. Sandoval, G. Virgen, and P. Torres. 2013. Insecticide resistance in adult *Diaphorina citri* Kuwayama from lime orchards in central west Mexico. *Southw. Entomol.* 38: 579-596.
- Villanueva-Jiménez J. A., F. Osorio-Acosta, L. D. Ortega-Arenas, U. Díaz-Zorrilla, V. H. García-Méndez, J. Luna Olivares, G. Luna Olivares, S. Zamora Juárez. 2019. Susceptibilidad de *Diaphorina citri* a insecticidas en los 24 estados que operaron la campaña contra HLB en 2018. In: Vinay, V. J. C., V. A. Esqueda E., O. H. Tosquy V., R. Zetina L., A. Ríos U., M. V. Vázquez H., A. L. Del Ángel P. y C. Perdomo M. (comps.). Avances en investigación científica, pecuaria, forestal, acuicola, pesquería, desarrollo rural, transferencia de tecnología, biotecnología, recursos naturales y cambio climático. p. 2285-2295. Disponible en: <http://rctveracruz.org/publicaciones.html>. Fecha de consulta: noviembre 2020