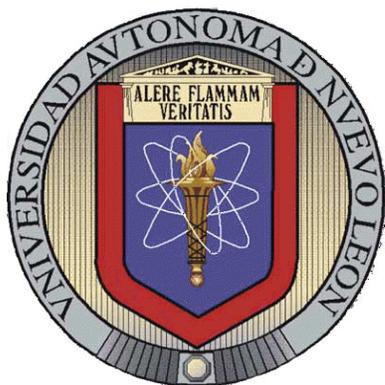


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (WATERSTON)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) en los estados de Colima, Nuevo León, Tamaulipas
y Michoacán, México.

POR

KENZY IVVETH PEÑA CARRILLO

Como requisito parcial para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS CON ACENTUACIÓN ENTOMOLOGÍA MÉDICA

AGOSTO 2012

VARIACIÓN MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DE *Tamarixia radiata*
(WATERSTON) (HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) EN LOS ESTADOS DE
COLIMA, NUEVO LEÓN, TAMAULIPAS Y MICHOACÁN

Comité de Tesis:



Director: Dr. Alejandro González Hernández



Secretario: Dra. Susana Favela Lara



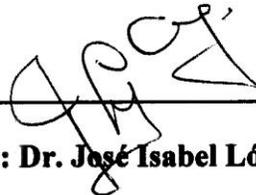
Vocal 1: Dr. Roberto Mercado Hernández



Vocal 2: Dra. Elva Aréchiga Carvajal



Vocal 3: Dra. Adriana Elizabeth Flores Suárez



Asesor externo: Dr. José Isabel López Arroyo

DEDICATORIA

A mi familia, a Franco, a la Dra. Susana

AGRADECIMIENTOS

Los fondos para la presente investigación fueron provistos por el proyecto FONSEC SAGARPA-CONACYT número 2009-108591.

Expreso mi más sincero agradecimiento al Dr. Alejandro González Hernández por todas las facilidades obtenidas durante la realización de esta investigación, sus comentarios, observaciones y sobretodo la aceptación como su estudiante han sido determinantes en mi formación académica y sobretodo una gran experiencia personal.

Nuevamente como guía en mi camino aparece la Dra. Susana Favela Lara a quien agradezco nuevamente por sus atenciones, comentarios y amistad, su fe y confianza en mi han dirigido mi vida hacia un nuevo camino que con emoción, agradecimiento y asombro disfruto cada día.

Agradezco al Dr. Roberto Mercado Hernández por su asesoría y comentarios realizados a este trabajo de investigación, los cuales han despertado en mi gran interés en la bioestadística, también quiero agradecerle porque es un maestro que siempre ha estado dispuesto a compartirme conocimiento de la manera más amable y paciente, gracias Dr!.

Gracias a las Dra. (s) Adriana E. Flores Suarez y Elva T. Arechiga Carvajal por participar como miembros de mi comité de tesis, así como por sus comentarios y asesorías mismas que han sido de gran ayuda para la mejora de este trabajo.

Agradezco al Dr. José Isabel López Arroyo su participación como asesor externo en la elaboración de esta tesis, gracias por todas las observaciones y comentarios realizados a esta investigación.

Finalmente quiero agradecer al Dr. Antonio Leija Tristán quien pese a no formar parte de mi comité de tesis (oficialmente), afable y con la mejor disposición me ha asesorado y ayudado a la mejora de esta investigación.

Agradezco a todas las personas que hicieron posible y agradable mi estancia en esta maestría, mi familia, amigos, pareja, y asesor mental, gracias por todo.

Doy especial gratitud al Biólogo Franco Gerardo Robles Guerrero, gracias a su apoyo, paciencia y buen humor mis días han sido de colores y abstractos, gracias por las lecciones que irremediamente me transmites día a día sobre responsabilidad y convivencia, gracias por todo.

Hace tiempo encontré un lugar perdido más cerca que la imaginación, su complejidad y sistemática hicieron de mi vida un placer fortuito, ahora como Dante recorro la comedia que me lleva al paraíso, y como Virgilio usted, como Beatriz mi aprendizaje. Sangre zacatecana que se adhiere a mi memoria eterna, vacío que contiene el verbo de la esclavitud abolida, consciencia de la inconsciencia, síntesis positiva.

TABLA DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	6
3. HIPÓTESIS.....	7
4. OBJETIVOS	8
4.1.Objetivo general.....	8
4.1.Objetivos particulares.....	8
5. ANTECEDENTES.....	9
5.1. Biología de <i>Tamarixia radiata</i>	9
5.2. Taxonomía de <i>Tamarixia radiata</i>	10
5.3. Importancia y Distribución de <i>Tamarixia radiata</i>	14
5.4. Causas de muerte de <i>Tamarixia radiata</i>	16
5.5. Evidencia molecular.....	16
6. MATERIAL Y MÉTODOS	19
6.1. Colecta de material biológico.....	19
6.2. Análisis morfológico	21
6.3. Análisis morfométrico	24
6.4. Análisis estadísticos	26
6.5. Análisis molecular	27
6.5.1. Extracción de ADN.....	27
6.5.2. Amplificación y Secuenciación de ADN	28
6.5.3. Análisis filogenético.....	29
7. RESULTADOS.....	30
7.1.Análisis morfológico	30
7.2.Análisis estadístico	35

7.3.Análisis morfométrico	45
7.4.Análisis molecular	46
8. DISCUSIÓN.....	53
9. CONCLUSIÓN	61
10. LITERATURA CITADA.....	63
11. RESUMEN BIBLIOGRÁFICO	76

LISTA DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1. Localidades de colecta.....	20
2. Variables morfológicas.....	22
3. Variables morfométricas	25
4. Análisis de X^2	35
5. Posición de sensila en escapo	36
6. Línea oscura en la parte ventral del escapo	37
7. Largo de setas funiculares	38
8. Forma de longitud de funículos	39
9. Color de cuerpo	40
10. Mancha en el inicio de la vena submarginal.....	41
11. Número de terguitos que abarca la mancha dorsal del abdomen.....	42
12. Número de setas del cerci.....	43
13. Línea dorsal oscurecida en apéndices femorales	44
14. Haplotipos	48

15. Comparación de haplotipos 52

RESUMEN

Tamarixia radiata (Waterston) es un micro himenoptero ectoparasitoides considerado como el principal agente de control biológico de *Diaphorina citri* Kuwayama, psílido transmisor de la enfermedad Huanglongbing (HLB). Y que además ha sido encontrado de manera silvestre en diversas regiones de América, en México su reproducción masiva forma parte de la estrategia preventiva para el control del psílido asiático de los cítricos. El presente estudio tuvo por objetivo analizar la variación morfológica y genética de algunas poblaciones de *T. radiata* de los estados de Colima, Michoacán, Nuevo León y Tamaulipas. Se determinó que la frecuencia de aparición de algunas variables morfológicas es significativamente diferente entre las regiones de estudio, como por ejemplo el color del cuerpo, y que entre los ejemplares analizados morfométricamente la especie mantiene una alta homogeneidad en hembras. Mientras que los machos son quienes presentaron la mayor variabilidad, la cual de acuerdo a la prueba de Tukey se concentró en los ejemplares de Colima, para lo cual se plantea la hipótesis de que la variación podría estar relacionada a la presencia de cepas de laboratorio y silvestres. Producto del análisis de componentes principales, se obtiene que la longitud abdominal y el largo total de los machos se presentan como las mediciones mas variables (formando el primer componente), junto con la longitud de funículo 4 y longitud de funículo 3 (formando el segundo componente), sin embargo con el análisis discriminante se determinó que de estas cuatro variables la longitud total de los machos es la medida que presentó más variación entre las muestras. Con respecto a la variación genética se determinó que entre las zonas de estudio la variación de *T. radiata* consiste en dos haplotipos, de los cuales uno es de distribución restringida y compartida por el vecino país E.U.A., por lo que se sugiere una posible ruta de entrada del parasitoides a México. Además se concluye que la baja variación genética encontrada sugiere que la especie se encuentra en proceso de adaptación y que la inclusión de regiones moleculares que capturen mas variación o que midan flujo génico serán útiles para el estudio de la dinámica poblacional de la especie.

ABSTRACT

Tamarixia radiata (Waterston) is an ectoparasitoid micro wasp hymenopter considered the principal biological control of *Diaphorina citri* Kuwayama, the asian citrus psyllid vector of the Huanglongbing (HLB) disease. This parasitoid has been found in wild form across America and in Mexico its breed take part of the preventive strategy for asian citrus psyllid control. The objective of this research was to analyze the morphological and genetic variation existing in some populations of Colima, Michoacán, Nuevo León and Tamaulipas. We determine that the appearance frequency of some morphological variants is significantly different between the study regions, for example: the body color, and the existence of higher levels of homogeneity between females. The males was the most variable, and according to Tukey tests the variability was concentrated between Colima individuals, for that we hypothesized that maybe is product of the presence of laboratory and wild strains. With the principal component analysis we obtained that abdominal and body total size of males are the most variables (first component) together with funicular four and three longitude (second component), however of that four variables according to the discriminant analysis the total size of body is the most variable between the samples. About the genetic variation, the presence of two haplotypes between study regions was determined, and of this, just one haplotype have restricted and shared distribution with the USA, according to this we suggest a possible route to Mexico of the parasitoid. Also we conclude that the lowest genetic variation suggest that the species is in adaptation process and the inclusion of another molecular regions who catch genetic flow can be useful in the population dynamic's study.

1. INTRODUCCIÓN

Durante años el hombre se ha enfrentado a diversas plagas o patógenos clave que han ejercido una fuerte presión económica en el sector cítrico, como ejemplos se puede citar al patógeno *Phytophthora spp.* que durante los siglos XVIII y XIX fue considerado el más destructivo de los cítricos (Fawcett, 1936). Después de 1930, el virus de la tristeza de los cítricos *Citrus tristeza virus* causó la muerte de cerca de 100 millones de árboles injertados en naranjo agrio a nivel mundial (Román *et al.*, 2004). Actualmente, la citricultura continúa siendo el blanco de patógenos que amenazan severamente la producción mundial de cítricos, enfrentándose nuevamente ante una enfermedad que hasta el momento no tiene cura y que se ha considerado la más destructiva para los cítricos del mundo (Mayorga-Castañeda, 2010), la enfermedad Huanglongbing (HLB).

La enfermedad Huanglongbing es causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter* que se encuentra restringida al floema de las plantas, existen tres especies de *Candidatus Liberibacter*: *Ca. L. americanus*, *Ca. L. asiaticus* y *Ca. L. africanus* (Moreno-Enríquez *et al.* 2011; Chung & Brlansky, 2009). Los signos que presentan las plantas infectadas con la bacteria, en cualquiera de sus tres especies son: presencia de motas amarillas en la parte foliar, engrosamiento foliar y de nervaduras, signos similares a los de una deficiencia de zinc, posteriormente las hojas caen y las ramillas mueren, la esperanza de vida de los árboles infectados es de 3 a 10 años (Salcedo *et al.*, 2010) durante los cuales los frutos producidos caen en exceso y el resto son deformes y en ocasiones de sabor amargo resultando poco atractivos en el mercado (Da Graca, 1991; Da Graca & Korsten,

2004; Halbert & Manjunath, 2004). La enfermedad tiene como vector principal a un insecto hemíptero de la familia Psyllidae llamado *Diaphorina citri* Kuwayama, el cual debe su importancia a que predilectamente se hospeda y alimenta sobre plantas pertenecientes a la familia Rutaceae, principalmente el género *Citrus* (Baeza-Nahed, 2008).

Diaphorina citri se reconoce por que en su estado inmaduro (fase ninfal), las ninfas miden de 0.25 a 1.7mm de longitud, generalmente son de color naranja amarilloso y a su paso dejan un rastro de melaza blanquecina colgante. Los adultos miden de 3-4mm de longitud, tienen el cuerpo café manchado y alas manchadas, son saltadores y su ciclo de vida varia de 14-50 días. Las hembras grávidas depositan los huevecillos sobre tejido vegetal, principalmente en las partes axilares de la planta. El ciclo de vida de *D. citri* oscila entre 11-47 días durante los cuales es capaz de adquirir la bacteria al momento de alimentarse, en periodo de infección de aproximadamente 15 minutos, sin embargo se requiere de un periodo de incubación extrínseco de 21 días para que el psílido sea infectivo (Mead & Fasulo, 2010). *D. citri* fue descrito en 1907 en Taiwán (Halbert & Manjunath, 2004), a nivel mundial se encuentra distribuido en países del continente americano, asiático y africano, mientras que la enfermedad HLB hasta el año 2011 (López-Collado, 2011), se ha encontrado distribuida en las zonas tropicales y subtropicales del mundo. Cabe mencionar que aparte de *D. citri* existe otro insecto vector de la enfermedad HLB, el hemíptero *Trioza erytreae* quien se ha relacionado a la transmisión de *Candidatus Liberibacter africanum* (Lebel-Tamesse, 2009), sin embargo su distribución se encuentra restringida al viejo mundo, particularmente al continente africano, Arabia Saudita y algunas áreas colindantes (Anon, 1967).

El psílido asiático de los cítricos (*D. citri*) representa una grave amenaza para la citricultura mundial, principalmente cuando se encuentra infectado con la bacteria, como ejemplos de sus devastadores daños basta con mencionar regiones como la India, Filipinas Tailandia y Arabia Saudita en donde se perdieron millones de árboles, en algunas la producción de cítricos disminuyó hasta más del 50% e incluso algunas variedades de cítricos fueron eliminadas por completo durante un tiempo (Fraser, 1978; Martínez & Wallace, 1967; Bhavakul *et al.*, 1981; Bové, 1986). La presencia del psílido asiático en América es alarmante debido a que en el continente se encuentran tres de los principales productores de cítricos a nivel mundial: Brasil, Estados Unidos y México. En América el psílido se encuentra ampliamente distribuido, situándose en los países de Estados Unidos, México, Cuba, Brasil, Puerto Rico, región del Caribe, Guatemala, Honduras, Belice, el Salvador, Costa Rica, Venezuela, Colombia, Brasil, Paraguay, Uruguay, Bolivia y Argentina. A pesar de la amplia distribución del psílido en América la enfermedad HLB se ha encontrado solamente en Brasil, Estados Unidos y México (López-Collado, 2011), en México la enfermedad se ha diseminado rápidamente; la primer detección se realizó en el 2009 en Yucatán y para el año 2011 ya se ha encontrado en los estados de Baja California Sur, Campeche, Chiapas, Colima, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa y Veracruz. (López-Arroyo *et al.*, 2010, SENASICA)

Para disminuir la propagación de la enfermedad en territorio mexicano se recomiendan tres acciones principales: 1. eliminación de plantas enfermas, 2. utilización de plántulas de viveros certificados, 3. control del vector, para el cual se recomienda el uso de insecticidas químicos debido a la rapidez de sus efectos y como parte de la

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)....

estrategia preventiva, se recomienda el uso de control biológico para el cual, el parasitoide *Tamarixia radiata* ha sido elegido como prioritario debido que hasta el momento ha sido el insecto más efectivo y con resultados satisfactorios en el control del psílido asiático en diversos países (Halbert & Núñez, 2004; Cáceres & Aguirre, 2005; Aubert, 1987; Pluke *et al.*, 2003; Michaud, 2004; Gómez-Torres *et al.*, 2006; Lizondo *et al.*, 2007).

Tamarixia radiata es un himenóptero ectoparasitoide originario de la India y considerado como el principal agente de control biológico del psílido (Chien & Chu, 1996). Gracias a la alta capacidad de dispersión, establecimiento y adaptación en campo, *T. radiata* se ha importado a países como Taiwán, Islas Reunión, Isla Mauricio y E.U.A. (Florida) (Cáceres & Aguirre, 2005) para el control biológico del psílido asiático de los cítricos. En dichos países, el parasitoide se ha establecido exitosamente incluso en regiones donde no se habían realizado liberaciones, como por ejemplo en E.U.A. (Texas y Puerto Rico) (Pluke *et al.*, 2003; Michaud, 2004; Gómez-Torres *et al.*, 2006; Lizondo *et al.*, 2007). A pesar de que en México no se realizó la introducción voluntaria de *T. radiata*, se han encontrado especímenes en diferentes regiones citrícolas (López-Arroyo *et al.*, 2008; González-Hernández *et al.*, 2009), y por estrategia básica para el manejo del psílido, desde el verano de 2008 se ha establecido un pie de cría del parasitoide en el campo experimental INIFAP General Terán, N.L. (López-Arroyo *et al.*, 2008), además, se ha establecido un programa de control biológico del psílido asiático de los cítricos, respaldado por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria y la Dirección General de Sanidad Vegetal del gobierno mexicano, el cual debido a los antecedentes de *T. radiata* como agente exitoso de control biológico, ha desarrollado

tecnología para la reproducción masiva del parasitoide en los estados de Colima y Yucatán a partir del año 2010 (Sánchez-González, 2011).

Con respecto a las poblaciones silvestres del parasitoide, diversos estudios relatan el hallazgo de variación dentro y fuera del país (González-Hernández *et al.*, 2009, 2010 a,b, Gómez-Torres, 2009), atribuida hasta el momento a factores climáticos, evidenciando así, la necesidad de conocer la variación a la que se encuentra sujeta la especie, en las distintas regiones geográficas de México, que como es bien sabido cuenta con una gran diversidad de climas y condiciones ecológicas, que podrían ejercer presión en la especie y al mismo tiempo determinar el éxito o fracaso del establecimiento de los ejemplares producidos masivamente para el control del psílido. Por consiguiente esta investigación tiene por objetivo caracterizar la variación morfológica, morfométrica y genética de *T. radiata* en distintas regiones del país, y determinar si estadísticamente existe relación entre la variabilidad encontrada y las zonas de estudio, respaldando así un mejor aprovechamiento de la especie que inclusive en determinado momento podría ser dirigido a nivel regional.

2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Actualmente el psílido *Diaphorina citri* está distribuido en todas las regiones citrícolas de México poniendo en grave riesgo a la citricultura ante la transmisión de la enfermedad Huanglongbing (HLB), y como estrategia de control del insecto vector del HLB en México se fomenta la producción masiva de *Tamarixia radiata* tomando como base el éxito que ha tenido controlando el psílido asiático en otras regiones del mundo.

Debido a que *T. radiata* es una especie exótica de la cual existen poblaciones silvestres en México, se esperaba se encuentre en proceso de adaptación en las mismas regiones en la que se localiza su hospedero. Por tal motivo el presente trabajo consistió en caracterizar la variación morfológica y morfométrica de *T. radiata*, así como la variación genética intraespecífica en los estados de Colima, Michoacán, Nuevo León y Tamaulipas, México, con el fin de determinar e identificar si entre sus poblaciones existen diferentes formas o estados las cuales podrán en un momento dado ser útiles para un mejor aprovechamiento de la especie.

3. HIPÓTESIS

El parasitoide *T. radiata* presentará variación morfológica y morfométrica, así como variación genética intraespecífica en y entre las zonas de estudio.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Analizar la variación morfológica y genética de las poblaciones de *Tamarixia radiata* en Colima, Michoacán, Nuevo León y Tamaulipas, México

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar y evaluar la variabilidad morfológica
- Caracterizar y evaluar la variabilidad morfométrica de poblaciones de *T. radiata* provenientes de los estados de Colima, Michoacán, Nuevo León y Tamaulipas y determinar si existe relación entre la variabilidad y las zonas de estudio.
- Analizar la variación genética encontrada en los individuos caracterizados morfológicamente, mediante el uso de la región mitocondrial *CO-I*

5. ANTECEDENTES

5.1. Biología de *Tamarixia radiata*

Tamarixia radiata se desarrolla como un ectoparasitoide idiobionte en ninfas de *Diaphorina citri*. Las hembras colocan sus huevecillos en la parte ventral de las ninfas, entre el tercer y quinto instar, al eclosionar las larvas de *T. radiata* succionan la hemolinfa de su hospedero y terminan su desarrollo en el cadáver de su huésped. El periodo de vida es más corto para los machos que para las hembras, en su vida, como adultos se alimentan de miel y néctar de plantas. La especie presenta una partenogénesis arrenotoca. *T. radiata* en diversos estudios demostró tener una franja térmica amplia, de 15-30°C, siendo 25 °C. (Gómez-Torres, 2009; Etienne *et al.*, 2001), las hembras pueden colocar hasta 300 huevecillos (Etienne *et al.*, 2001; Baeza-Nahed, 2008) *Tamarixia radiata* se desarrolla en un periodo de doce días en ninfas de tercero a quinto instar de la plaga; al emerger puede permanecer en campo hasta 24 días, para parasitar hasta 330 ninfas (Chien *et al.*, 2001, Aubert *et al.*, 1996).

5.2. Taxonomía de *Tamarixia radiata*

Orden: Hymenoptera

Suborden: Apocrita

Familia: Eulophidae

Subfamilia: Tetrastichinae

Género: *Tamarixia*

Especie: *T. radiata*

Waterston (1922) describe originalmente a *Tamarixia radiata* en el género *Tetrastichus* especie *T. radiatus* bajo la siguiente descripción:

Similar en color y estructura a *Tamarixia dryi*, *sp. n.*, pero se diferencia por poseer las patas claras casi en su totalidad, los fémur posteriores en la mayoría poseen ligeramente un oscurecimiento dorsal. En los ♂ los órganos sensoriales se encuentran debajo del borde ventral del escapo, y las proporciones de las antenas son generalmente diferentes. Ambos sexos tienen una mancha de color claro en la parte dorsal del abdomen, la cual en es probablemente un carácter del grupo.

♂ Cabeza más ancha que larga. Ojos ampliamente separados, la amplitud del frons (frente de la cara) es casi igual a la profundidad de la cabeza desde el ocelo anterior hasta el borde clipeal. Este último es de borde recto, con dos muescas pequeñas en la parte media, se distinguen a dos quintas partes de la quilla genal. Los toruli se distinguen en lo alto, su línea superior se encuentra justo sobre la mitad de la cara y más cerca (3:4) de las orbitas que al otro. Los ojos se encuentran al descubierto, prominentes, tres quintos de la profundidad (largo) de la cabeza. Superficie casi lisa sobre el toruli, el patrón más fino se vuelve más marcado hacia las orbitas y la quilla genal o sutura. La cara por completo al

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)...

descubierto; cuatro cerdas en un cuadrángulo en el cípeo y unas diminutas en cada muesca, dos en la parte interna de la sutura genal, 2-3 bajo cada torulus, y 4-6 a lo largo de cada orbita. Antena 0.7mm; escapo (10:3) más largo que el pedicelo (3:2) y prácticamente más largo que la clava salvo el espolón; órgano sensorial corto, cerca de un tercio de la amplitud. En cada uno de los primeros cuatro normales articulaciones funiculares y en el primer segmento de la clava se encuentra una fila de setas largas tubulares, como la siguiente, 10, 10, 8, 6, 5. Además hay una sensila en el segmento uno y el primero de la clava, y dos (excepcionalmente 3 en el segundo) en todos los demás. Los segmentos del funículo y clava, 24, 33, 35, 35, 22, 22, 22 y espolón cerca de 5; la anchura decrece de 24 (1) a 18 (4) y 15 en la clava. Labrum simple, transverso con 4 setas (2,2); mandíbula muy cóncava ventralmente, dientes profundamente separados, el superior amplio; estípites con setas largas a cada lado cerca del palpus y otro diminuto cerca de la mitad; el palpo maxilar dos veces y media del labial; gálea con cerca de 6 setas fuertemente insertadas y algunas veinte más en la parte superior. Tórax: Pronotum con un patrón moderado, poco elevado; a pesar de las setas comunes sobre los espiráculos, las cuales se encuentran en cada lado de la línea media 5-6 en una hilera posterior y 10-12 diminutas muy irregularmente encontradas. Mesoescutum con 4 setas fuertes (2,2) cerca de los surcos parapsidales, un par en un cuarto y el otro a tres cuartos de la sutura escutelar. Metanotum liso, en algunos especímenes con un rastro de una carina recurrente en el área media. Propodeum liso, carina media amplia, espiráculos grandes, ampliamente ovals (tendido hacia adelante en el borde anterior con solamente un surco corto), tres cuartas partes tan largas como la carina media; una larga seta en el borde del espiráculo anterolateral, y una entre el espiráculo y el ángulo posterolateral. No

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)...

hay pliegues laterales; a lo mucho un espolón corto, en algunos especímenes emitido del borde lateral en cada lado de la línea media. Mesoescutum casi completamente liso, pero dos terceras partes del prepectus muestran un bastante grueso y ligeramente elevado patrón. Ala anterior de 0.9mm en longitud, cerca de dos y un cuarto de veces tan larga como amplia; una seta en la SMV, y debajo de la celda submarginal 2-3 diminutas setas, cerca de la base y 3-4 en el ápice; vena marginal oscurecida, con cerca de nueve setas en el borde y el mismo número debajo, pero con más de 11 en la cara superficial; radius con 2-3 setas, ambas abajo y arriba. Alas posteriores 0.7mm. Patas: Espolón de la tibia frontal corto y débil; dos espolones cortos en el lado de la primera articulación tarsal anterior; 8-9 espinas en combo de la tibia posterior; primera articulación en todos los tarsi corto y en el siguiente radio: (i) 15,20,15,25; (ii) 15, 22, 17, 25; (iii) 15,2,20,25. Abdomen: Superficie dorsal lisa (especialmente anteromediana), pero distinguidamente elevada a los lados estrechamente y en las porciones traslapantes de cada terguito (pleura). Terguitos 1-5 tienen 2-3 setas en la pleura; 1 se encuentra desnudo dorsalmente; 2 tiene 2 setas en cada lado; 3,4 y 5 tienen una fila posterior de cerca de 8-10 setas; 6 muestra 4-5 entre los espiráculos y dos fuera de cada espiráculo posteriormente, mientras existen dos o más en cada superposición independiente. El estilete es un tercio tan amplio como largo y viste 4 setas largas; entre los estiletos dos setas. Los esternitos (exceptuando el primero) visten dos setas medianamente (1,1). El penis (ahora aedagus) es muy elongado, e incluso cuando esta retraído es tres quintas partes del abdomen en longitud, mientras que la punta aplanada es cerca de un cuarto. Longitud, cerca de 1.1mm; expansión alar cerca de 2mm.

♀ Cabeza más ancha que larga (8:6), pero apenas tan ancha como en el ♂. Cara (4:3) con 7-8 setas a lo largo de cada orbita y 8-10 mas antes de la línea media. Toruli a un

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)...

tercio del borde de la boca al ocelo anterior. Antena 0.7 mm; escapo (7:2) más largo (13:6) que el pedicelo (2:1) y un quinto más largo que la clava; pedicelo y el primer segmento funicular subiguales (32:29) en longitud y la mitad de ancho que largo; funículo y clava en radio, 29,25,22,16,16,24; la anchura de las tres articulaciones funiculares 15,17,20, y de las suturas de clava 30,24; sensoriales 4,5,7,7-8,11,6. Palpo maxilar cerca del doble (9:4) del labial. Tórax: en el pronotum las dispersas y diminutas setas antes que la fila posterior son cerca de 20 en cada lado. Propodeum liso cerca de la quilla, pero más duro con la longitud, patrón ligeramente elevado, en la mitad exterior y fuera del espiráculo. Ala anterior (7:3), longitud cerca de 1mm; una franja de setas del lado marginal como en los ♂, pero arriba de 14 en la cara dorsal de la misma vena. El tallo del radius viste 3 setas, y estas pueden ser una o más, también pueden estar en el ápice. Alas posteriores de 0.8mm de longitud. Patas: Articulaciones tarsales en radio: (i) 15,20,18,30; (ii) 20,25,20,30; (iii)20,25,23,30. Abdomen claro, liso, débilmente quitinizado dorsalmente, el área extiende ceca de 4 terguitos medianamente. Hay más setas en las hileras posteriores de los terguitos 3-6. El terguito 5 es casi el doble de la longitud como 6. Hilera posterior en 6 con cerca de 14 setas. Entre los estiletes en el terguito 7 hay 4 setas (2,2) y cuatro más anteriormente, mientras en el borde posterior hay cerca de 6 diminutas setas. Ovipositor apenas sobresaliendo; la porción libre en la vaina ceca de un cuarto de la base, esternitos débilmente quitinizados. Longitud 1.3mm; extensión alar 2.6mm.

Graham (1991), hace una revisión del género *Tetrastichus* y ubica a la especie *T. radiatus* dentro del género *Tamarixia*, además menciona que la coloración de las patas es un carácter taxonómico importante para el género *Tamarixia*.

González-Hernández *et al.*, (2009). Mencionan que durante la revisión de material colectado durante los años 2005-2008 a partir de ninfas de *Diaphorina citri* provenientes de los estados de Colima, Michoacán, Nuevo León, Sinaloa, Sonora y Tamaulipas encontró tres parasitoides primarios: *Tamarixia radiata*, *Tamarixia sp.1* y *Tamarixia sp.2*. Menciona que las características importantes para diferenciar especies de *Tamarixia* son la longitud de setas en los segmentos funiculares de las antenas del macho, así como el color del gáster en hembras y machos. Describe un ejemplar nativo llamado *Tamarixia sp.* el cual describe como el cuerpo color pardo claro, el gáster de la hembra sin manchas amarillas, apéndices pardo oscuro en coxas y fémur, y el macho con setas del primer segmento funicular alcanzando la clava y finalmente menciona que la clarificación de especies de *Tamarixia* será necesaria con estudios de morfometría, reproducción, comportamiento y sistemática molecular.

5.3. Importancia y Distribución de *Tamarixia radiata*

Tamarixia radiata (Waterston) es un ectoparasitoide cuyo hospedero (o al menos uno) es el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri*, es originario de la India y fue importado para el control biológico del psílido en Taiwán, Islas Reunión, Isla Mauricio y Florida (E.U.A.) (Cáceres & Aguirre, 2005)

En países donde se encuentra naturalmente *T. radiata*, es la responsable del mantenimiento de la plaga en equilibrio (Halbert & Núñez, 2004).

En la Isla Reunión el establecimiento de *T. radiata* y *T. dryi* (parasitoide de *Trioza erythrae*, también vector del greening Africano) fueron acreditados por detener prácticamente la epidemia de HLB en dicho lugar (Aubert, 1987).

Actualmente *T. radiata* es el principal agente de control biológico de *D. citri*, con alta eficiencia de parasitismo, gran capacidad de dispersión, establecimiento y adaptación en campo (Chien & Chu, 1996). Estableciéndose naturalmente al mismo tiempo en áreas donde no fueron realizadas liberaciones, como ha ocurrido en EUA (Texas) y Puerto Rico (Pluke *et al.*, 2003, Michaud, 2004, Gómez-Torres *et al.*, 2006, Lizondo *et al.*, 2007).

En Florida se han liberado ejemplares del parasitoide provenientes de laboratorios de crianza en Taiwán, y de poblaciones de Tien-Giang, en el sur de Vietnam (Barr *et al.* 2009), además en Florida se mantienen en cuarentena nuevas razas de *T. radiata*, que serán evaluadas y liberadas a corto plazo (López –Arroyo *et al.*, 2010). Para el año 2008 (Torres & Parra, 2008), en la citricultura de Brasil su aplicación se encontraba en vías de desarrollo.

En México *T. radiata* ha sido encontrada en diferentes regiones citrícolas (López-Arroyo *et al.*, 2008; González-Hernández *et al.*, 2009) y por estrategia básica para el manejo de *D. citri*, desde el verano de 2008 se ha establecido un pie de cría de este importante insecto benéfico en el campo experimental General Terán, N.L.

El uso de *T. radiata* en la citricultura nacional representa una estrategia elemental para el manejo de la plaga (*D. citri*), su uso representa un costo muy bajo en comparación con la aplicación de insecticidas y carece de efectos colaterales negativos en el medio ambiente. Con su utilización se pretende elevar el nivel de parasitismo natural existente

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)....

en las diversas regiones citrícolas con la plaga, y evitar el uso de estrategias más costosas económica y ambientalmente, (López-Arroyo *et al.*, 2008, González-Hernández *et al.*, 2009), buscando evitar que se introduzcan poblaciones de razas más agresivas de insectos que pudiesen terminar en competencia intraespecífica y desplazamiento de los parasitoides nativos (López-Arroyo *et al.*, 2009).

5.7. Causas de muerte de *Tamarixia radiata*

Más del 95% de los estadios inmaduros de *Tamarixia radiata* son depredados principalmente por coccinélidos. (Michaud, 2004; Baeza-Nahed, 2008).

En observaciones realizadas cerca del 2004, se vio que en Sao Paulo se había reducido gran parte de la población del parasitoide *T. radiata* que aparentemente mantenía regulada la plaga, esto probablemente a causa de la aplicación indiscriminada de insecticidas para el control de plagas, incluyendo el psílido (Gómez-Torres, 2009.).

5.8. Evidencia molecular

Gómez-Torres (2009), en su tesis doctoral sobre estudios bio-ecológicos de *T. radiata* para el control de *D. citri* reportó haber encontrado variaciones cromáticas en la especie *T. radiata* en gáster y patas oscurecidas, dichos ejemplares se sometieron a análisis moleculares utilizando las regiones ITS1 e ITS2 de rADN, encontrando un 98-99% de similitud en relación a la especie típica de *T. radiata*, motivo por el cual concluye que

esas características cromáticas están relacionadas a plasticidad fenotípica intraespecífica, propia de poblaciones que corresponden a variaciones de ambiente que se encontraron en proceso de adaptación ecológica, en dicho país.

En el 2009, Barr *et al.* realizaron una comparación entre colonias de *T. radiata* colectadas en campo, provenientes de Puerto Rico, Guadalupe, Texas y Florida, mediante la utilización de las secuencias de *COI*, *ITS-1*, e *ITS-2*, ellos proponen que Florida es probablemente la fuente de introducción a Texas del parasitoide; además reportan que las poblaciones provenientes de campo en Florida muestran dos haplotipos similares a los que se encuentran en los laboratorios de crianza de Texas y Florida, pero encuentran un tercer haplotipo que no se encuentra en las muestras de laboratorio de Florida, finalmente mencionan que los marcadores mitocondriales (*COI*) que utilizaron indican niveles de divergencia relativamente bajos entre las colonias de laboratorio y no sugieren evidencia de especies crípticas del taxón.

En el 2010 De León & Mamoudou realizaron un estudio en algunas poblaciones de *T. radiata* de Florida, Texas y México, de este último analizan solo una localidad de Sonora, realizan una huella genética (“fingerprinting”) y no encuentran diferencias entre las poblaciones de *T. radiata* mediante esta técnica, en dicho estudio también se analizan las poblaciones utilizando el gen *COI* y encontrando diversos haplotipos (Haplotipo 1,2,3,4,5,6 y 7), de los cuales hay que resaltar, que entre las poblaciones de Texas y México hay un haplotipo en común, no entre Florida-Texas como se habría pensado; mediante un análisis filogenético, utilizando el criterio del Neighbor-Joining, encuentran

que las poblaciones de Florida se encuentran formando una rama, a diferencia que las de Texas y México las cuales se encuentran en un misma rama, lo cual sugiere que la población de Texas proviene de México o viceversa, ellos definen que la población de México muestra menos diversidad de haplotipos.

González-Hernández *et al.*, (2010 a) realizan una investigación sobre la variabilidad morfológica y genética de *T. radiata*, encuentran variaciones en caracteres morfológicos, especialmente en pigmentación y tamaño de individuos, además al alinear secuencias homologas de los genes ITS1, ITS2 y *COI*, encuentran que el gen *COI* presenta mayor polimorfismo en su secuencia, reportando un total de cinco haplotipos (Haplotipo 1,2,3,4 y 5) distintos distribuidos en los estados de Campeche, Colima, Michoacán, N.L., Oaxaca, Q. Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán sin correspondencia aparente con su distribución geográfica.

6. MATERIAL Y MÉTODO

Los ejemplares que se utilizaron en esta investigación provinieron de algunas poblaciones colectadas en los estados de Nuevo León, Tamaulipas, Colima y Michoacán, estados que albergan regiones citrícolas, en donde se ha reportado la presencia del psílido asiático de los cítricos.

6.1. Colecta de material biológico

Los especímenes fueron proporcionados por colaboradores del proyecto “Manejo de la enfermedad Huanglongbing, mediante el control de *Diaphorina citri* Kuwayama (HEMIPTERA: PSYLLIDAE), “el psílido asiático de los cítricos”, provenientes de regiones citrícolas mexicanas, particularmente los estados de Nuevo León, Tamaulipas, Colima y Michoacán (Tabla 1) en donde se ha reportado la presencia del psílido asiático de los cítricos y por ende la de *Tamarixia radiata*.

LOCALIDADES DE COLECTAS				
Clave *CIBE	Localidad y/o municipio	Estado	Fecha de Colecta	Cultivo
CIBE 10-157	Armería	Colima	01/03/2010	Rutácea
CIBE 10-155	Tecomán	Colima	05/01/2010	Rutácea
CIBE 10-154	Coalatilla	Colima	01/05/2010	Rutácea
CIBE 10-166	General Terán	Nuevo León	05/09/2009	Rutácea
CIBE 09-040			09/05/2009	
CIBE 11-023	Montemorelos	Nuevo León	17/04/2011	Limonaria
CIBE 10-67	Cd. Victoria, Planetario	Tamaulipas	23/04/2010	Limonaria
CIBE 10-192	Hidalgo	Tamaulipas	15/10/2006	Limonaria
CIBE 10-223			20/08/2007	N. valencia
CIBE 10-194	Güemez	Tamaulipas	22/10/2006	N. valencia
CIBE 11-244	Apatzingán	Michoacán	21/02/2011	Limón
CIBE 11-245	Apatzingán, CEVA	Michoacán	02/03/2011	Limón

Tabla 1. Localidades de colectas utilizadas en esta investigación CIBE= Colección de Insectos Benéficos Entomófagos

Para los análisis se utilizaron individuos provenientes de 2 ó 3 localidades diferentes (25 individuos/localidad) por estado (Tabla 1), se colectaron mediante red de golpeo y preservaron en alcohol al 70%, cada frasco se etiquetó con información relevante sobre la colecta como:

- Lugar de colecta: Coordenadas geográficas, Municipio, colonia o nombre del sitio donde se llevó a cabo la colecta.
- Planta hospedera
- Nombre del colector
- Fecha

6.2. Análisis Morfológico de *Tamarixia radiata*

Materiales:

- Alcohol etílico absoluto

- Viales de 1.5 ml
- Etiquetas adhesivas pequeñas
- Pinzas
- Estereoscopio
- Cajas petri
- Claves de identificación

Una vez recibidas, las muestras fueron revisadas en la Colección de Insectos Benéficos, UANL; se tamizaron y a partir de ahí se filtraron los individuos de *Tamarixia radiata* y de *D. citri*, los demás insectos que acompañaron la muestra también fueron preservados. Todos los ejemplares se separaron bajo el estereoscopio en cajas petri y se colocaron en viales etiquetados, conteniendo alcohol etílico absoluto para su posterior uso en el laboratorio de ecología molecular.

Los ejemplares de *T. radiata*, se revisaron morfológicamente. Los ejemplares que presentaron diferencias morfológicas se identificaron de acuerdo a las claves artificiales de Gibson, Huber & Woolley (1997) para nivel género y Waterston (1922) para corroborar la especie.

Se examinó un total de 23 variables morfológicas (Tabla 2) en 25 individuos (machos y hembras) de cada localidad, las variables morfológicas se definieron en base a los siguientes criterios: 1) Caracteres que hayan sido considerados en estudios previos, 2) Caracteres taxonómicamente importantes para la determinación de la especie (Waterston, 1922), 3) Caracteres que presentaron variación dentro de las poblaciones a estudiar, los

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)...

caracteres se codificaron numéricamente como se muestra en la Tabla 2, en total se analizaron 267 ejemplares.

	VARIABLE MORFOLÓGICA	CODIFICACIÓN
SEXO		1=Macho; 2=Hembra
CABEZA	2. Color de cuerpo (CC)	1= oscuro; 2=pardo
	3. Posición de sensila en escapo (PS)	1=superior; 2=media; 3=inferior; 4=ausente
	4. Línea oscura en la parte ventral del escapo (LE)	1=presente; 2=ausente
	5. Largo de setas funiculares (LSF*)	1=medio funículo 2=un funículo; 3= dos funículos; 4=tres funículos; 5=cuatro funículos; 6=ausente; 7=más de cuatro funículos
	7. Forma de longitud de funículos (FLF)	1= en forma creciente; 2=decreciente; 3=irregular
TÓRAX	11. Número de setas adnotaulares (NSA)	1=una seta; 2=dos setas; 3=más de dos setas
	12. Número de setas en callo propodeal (NSC)	1= una seta; 2=dos setas; 3=tres setas; 4=más de tres setas
ALA ANTERIOR	13. Mancha en el inicio de la SMV (MSM)	1=presente; 2=ausente
	14. Número de setas en la SMV (NSM)	1=1 seta; 2=2 setas; 3=>3setas
ABDOMEN	15. Proporción del abdomen (PAB)	1=más largo que ancho; 2=casi tan largo como ancho; 3=más ancho que largo
	18. Número de terguitos que abarca la mancha dorsal de abdomen (NTD)	1=un terguito; 2= dos terguitos; 3=tres terguitos; 4=cuatro terguitos; 5=cinco terguitos; 6=ausente
	19. Setas del cerci (SC)	1= tan largo como el terguito final; 2=mitad de longitud del terguito final; 3=el doble de longitud del terguito final
	20. Número de setas del cerci (NSC)	1=dos; 2=tres; 3=más de tres
	22. Línea dorsal oscurecida en alguno de los siguientes apéndices tibiales (LDT)	1=en todos; 2=protibia; 3=mesotibia; 4=metatibia; 5=protibia y mesotibia; 6=protibia y metatibia; 7=mesotibia y metatibia; 8=ausente
	23. Línea dorsal oscurecida en alguno de los siguientes apéndices femorales (LDF)	1=en todos; 2=profemur; 2=mesofemur; 3=metafemur; 5=profemur y mesofemur; 6=profemur y metafemur; 7=mesofemur y metafemur; 8=ausente

Tabla 2. Variables morfológicas, en la tabla se muestra cada carácter que fue revisado y su codificación. *LSF se consideró a partir del primer funículo.

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)....

Los caracteres taxonómicos se almacenaron en una hoja de cálculo Excel 2007 para posteriormente ser analizados estadísticamente en el programa SPSS Statistics 15.0 con licencia del Dr. Roberto Mercado Hernández..

6.3. Análisis Morfométrico de *Tamarixia radiata*

Materiales:

- Alcohol etílico absoluto
- Cámara fotográfica
- Computadora
- Estereoscopio
- Etiquetas adhesivas
- Microscopio de alta resolución
- Pinzas
- Programa Image Pro Plus 4.0
- Viales de 1.5 ml

Con el propósito de recabar la mayor información acerca de la variabilidad presente en *Tamarixia radiata* se seleccionaron además 10 variables morfométricas las cuales fueron seleccionadas considerando las aportaciones realizadas por investigaciones previas (Waterston, 1922; Gómez-Torres, 2009; González-Hernández *et al.*, 2008, 2009, 2010a) y lo observado durante el manejo de los ejemplares, seis variables se analizaron en machos y hembras y cuatro variables fueron exclusivas de machos puesto que en las hembras no se presentaba el carácter, las variables morfométricas son las siguientes (Tabla 3):

SEXO	VARIABLE MORFOMÉTRICA	ABREVIACIÓN
♂♀	Longitud total	LT
♂♀	Longitud tórax	LTX
♂♀	Ancho tórax	ATX
♂♀	Longitud abdomen	LAB
♂♀	Ancho abdomen	AAB
♂♀	Longitud antenas	LA
♂	Longitud de seta funicular 1	LF1
♂	Longitud de seta funicular 2	LF2
♂	Longitud de seta funicular 3	LF3
♂	Longitud de seta funicular 4	LF4

Tabla 3. Variables morfométricas, en la tabla se aprecian las variables, su abreviatura y el género (♂♀) en el que se presenta.

Para la medición de ejemplares se utilizaron las mismas muestras que se utilizaron en el análisis morfológico (Tabla 1), de las cuales se seleccionó un mínimo de 20 hembras y machos por localidad. Se midió un total de 227 ejemplares (111♂ y 116♀) y las medidas fueron almacenadas en una hoja de cálculo de Microsoft office Excel 2007 para su posterior análisis estadístico.

6.4. Análisis estadísticos

Materiales:

- Computadora con Software SPSS statistics 17.0

Los datos obtenidos del análisis morfológico se sometieron a un análisis de frecuencias (mediante tablas de contingencia), los datos fueron agrupados por sexo en el programa SPSS statistics 15.0 con licencia del Dr. Roberto Mercado Hernández y sometidos a una prueba de X^2 . La prueba de X^2 se realizó con la finalidad de determinar si existe dependencia de la frecuencia de aparición de los diferentes estados del carácter, con alguna de las áreas geográficas de estudio.

Los datos morfométricos de machos y hembras fueron analizados por separado. El primer análisis utilizado fue un análisis de varianza simple (ANOVA), el ANOVA se elaboro con el fin de determinar si existían diferencias significativas entre las longitudes analizadas. Los datos que presentaban diferencias significativas fueron posteriormente analizados con una prueba de Tukey, para determinar de las variables significativas, en que regiones geográficas fue donde se presentaron las diferencias. Posteriormente se realizaron dos análisis multivariados: un Análisis de Componentes Principales (ACP), realizado con la finalidad de sintetizar las variables analizadas y determinar la existencia de grupos definidos, en este caso definidos por longitud, y finalmente un Análisis Discriminante (AD), realizado para determinar cuáles son las variables que difieren entre los grupos definidos por el ACP.

6.5. Análisis molecular de *Tamarixia radiata*

6.5.1. Extracción de ADN

Materiales:

- Agua bidestilada
- Buffer PBS
- Gradillas para tubos de 1.5ml
- Gradillas para tubos falcón de 50ml
- Guantes desechables
- Kit de extracción Pure Link Genomic DNA Kit (Invitrogen, Carisbad, CA, USA)
- Microcentrifuga
- Micropipetas
- Puntillas de 1ml y 250µl.
- Viales de 1.5ml, 0.6 µl, 0.2 µl.

Para la extracción de ADN se seleccionaron cuatro ejemplares por población, los cuales fueron ejemplares representativos de cada población escogidos al azar, es decir dichos ejemplares provienen de una población homogénea y se apegan a la descripción original de *Tamarixia radiata* Waterston (1922). El procesamiento de ADN se llevó a cabo en el laboratorio de Ecología Molecular de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UANL. La extracción de ADN se llevo a cabo mediante el uso del Pure Link Genomic

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)...

DNA Kit, de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Invitrogen, Carisbad, CA, USA), se utilizó un insecto completo por cada extracción, el ADN extraído se mantuvo a -20°C hasta su uso.

6.5.2. Amplificación y Secuenciación de ADN

Materiales:

- Agarosa
- Cámara de electroforesis
- Gradillas para tubos de .6µl
- Micropipetas
- Puntillas de 1000 µl, 250µl, 50 µl, 25µl, 2 µl
- Reactivos para la reacción de PCR: Agua mQ, Buffer, dNTP's, Mg₂Cl, Oligonucleotidos, Taq polimerasa.
- Software Mega 4.0
- Termociclador

Las reacciones de PCR se realizaron de acuerdo a las siguientes concentraciones:

Buffer 1x, dNTP's 2mM, MgCl₂ 2Mm, Primer u oligos 20 ng/µl, 1U de *Taq*.

Gen *COI* mitocondrial

Primers CI-J-1718 (forward) 5'-GGAGGATTTGAAATTGATTAGTTCC-3' y C1-N-2191 (reverse) 5'CCCGGTAAAATTTAAAATATAAACTTC-3' (Simón et al., 1994)

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)....

fueron utilizados como lo describió anteriormente De León *et al.*, 2006 a, b, 2008, dichos primer fueron amplificados bajo las siguientes condiciones: un ciclo de 3 minutos a 94°C; 40 ciclos a 94°C-20 segundos; 48°C-20 segundos y finalmente 72°C-40 segundos.

Para la identificación del tamaño del fragmento amplificado los productos se visualizaron en geles de agarosa al 2% y se compararon con un marcador de peso molecular de migración conocida, posteriormente los productos de PCR deseados, se enviaron a la compañía Macrogen E.U.A., para su secuenciación en ambos sentidos, con los mismos oligonucleótidos de la amplificación.

6.5.3. Análisis filogenético

Materiales:

- Computadora con Programa MEGA 5.0

A partir de las secuencias de ADN, los productos se revisaron y alinearon manualmente en el programa MEGA 5.0 con la finalidad de identificar los puntos de mutación (variación genética) llamados haplotipos, comparando las secuencias obtenidas de cada individuo. En la alineación se incluyeron secuencias de *Tamarixia radiata* disponibles en el banco de genes y una vez compilada toda la información se elaboró un árbol filogenético de Neighbor-joining para determinar la distancia genética entre las secuencias analizadas. El modelo de 3 parametros de Tamura (Tamura, Nei & Kumar, 2004) fue calculado por el mismo programa y utilizado para la inferencia del árbol Neighbor-joining.

7. RESULTADOS

7.1. Análisis morfológico

A partir del análisis morfológico realizado a una muestra de 267 ejemplares de *Tamarixia radiata* integrada por 136 ♂ y 131 ♀, se desprende la siguiente diagnosis cuyo fin es describir los ejemplares encontrados entre las regiones de estudio.

Entre los ejemplares de *Tamarixia radiata* se pueden encontrar machos y hembras de coloración oscura ó parda (Figura 1, 2), patas con una línea dorsal oscurecida en femur, tibia ó ambos ó completamente claras (Figura 3). En el lóbulo medio del mesoescutellum se encuentra un par de setas adnotaulares en cada lado y en algunos ejemplares se encontraron hasta tres setas, esta tercera seta es más pequeña y con longitud aproximada de casi la mitad de las setas, cuando se presentó la tercera seta solamente apareció en un lado del lóbulo medio del mesoescutellum. Las alas presentan una pequeña mancha en el inicio de la vena submarginal (Figura 4) la cual en ocasiones está ausente. En la parte dorsal de la vena submarginal del ala anterior se encuentra una seta y en ocasiones dos (Figura 5), cuando se presentan dos setas ocurre en una sola ala.

♂ Poseen una sensila en la parte dorsal del escapo que se ubica en el área de la base hasta la mitad de este, cerca de la parte media o inferior del escapo. Las setas del primer funículo abarcan en longitud de 2-4 funículos, sin embargo se encontraron escasos

ejemplares cuyas setas alcanzan la base de la clava, el primer funículo siempre es más pequeño que los subsecuentes. El gáster presenta una mancha en la parte dorsal que abarca comúnmente dos terguitos (Figura 6). Las setas de los cerci se encuentran en grupos de hasta 4 setas. En ♀ los funículos se encuentran de manera decreciente, es decir el primer funículo es más grande que el segundo y el segundo que el tercero, sin embargo los funículos de algunos ejemplares no presentaron este patrón de crecimiento. La mancha dorsal del gaster comúnmente abarca hasta cuatro terguitos (Figura 6), se encontró un ejemplar cuya mancha dorsal abarcó cinco terguitos.



Figura 1. Variación cromática en cuerpo de machos: ejemplar color oscuro (izquierda), ejemplar color pardo (derecha).



Figura 2. Variación cromática en cuerpo de hembras: ejemplar color oscuro (izquierda), ejemplar color pardo (derecha).



Figura 3. Variación cromática de patas: a) y b) Oscurecimiento en femur y tibia; c) y d) Patas sin oscurecimiento.

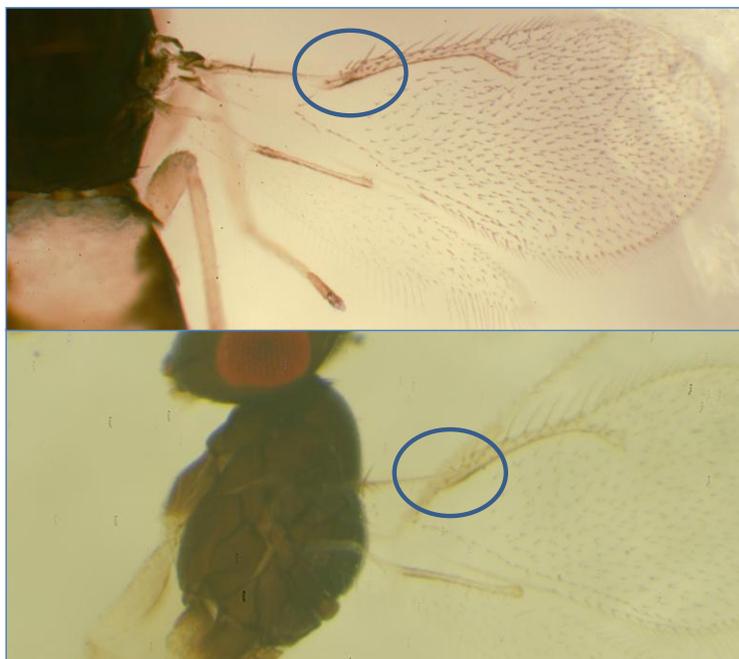


Figura 4. Mancha en el inicio de la vena submarginal (arriba), mancha ausente en el inicio de la vena submarginal (abajo).



Figura 5. Setas en la vena submarginal: una seta en la vena submarginal (arriba), dos setas en la vena submarginal (abajo).

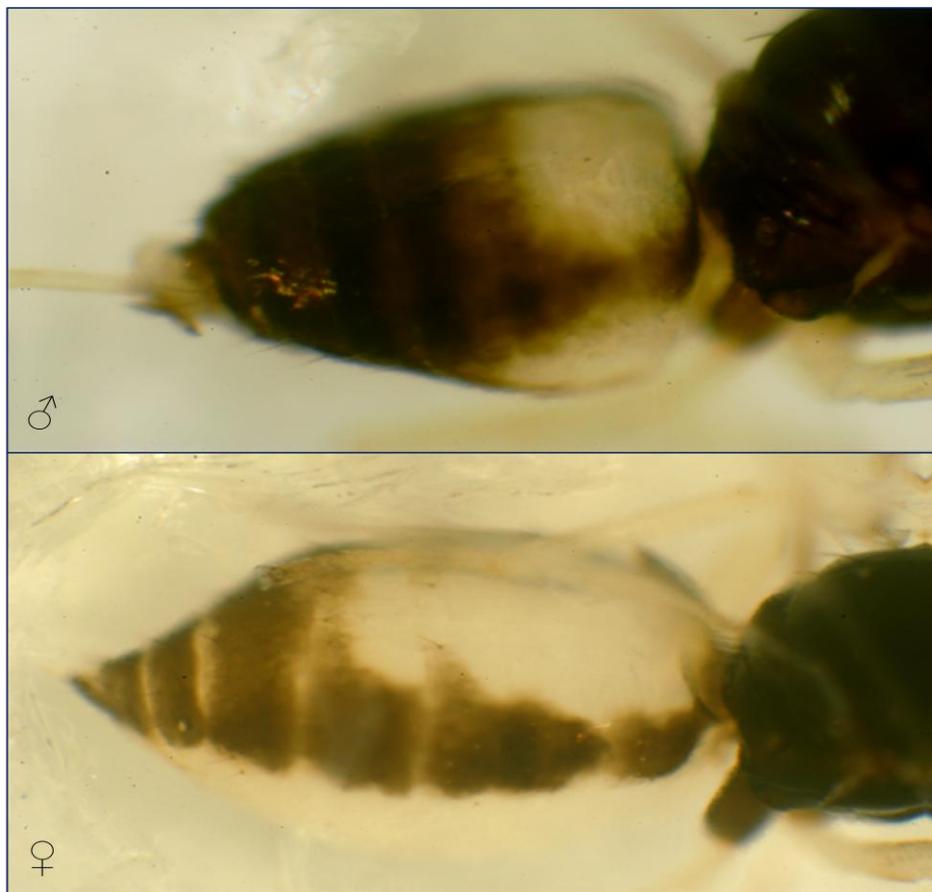


Figura 6. Mancha dorsal en gáster: En machos comúnmente la mancha abarca dos terguitos (arriba), en hembras la mancha abarca comúnmente cuatro terguitos (abajo).

7.2. Análisis estadístico

Machos			Hembras		
Característica	X ²	Significancia (α=0.05)	Característica	X ²	Significancia (α=0.05)
Posición de sensila en escapo (PS)	41.575	0.000	Forma de longitud de funículos (FLF)	19.911	0.003
Línea oscura en la parte ventral del escapo (LE)	8.327	0.040	Color de cuerpo (CP)	35.063	0.000
Largo de setas funiculares (LSF)	18.60	0.029	Numero de terguitos que abarca la mancha dorsal del abdomen (NTD)	12.574	0.050
Color de cuerpo (CP)	11.392	0.010	Proporción de setas del cerci (SC)	17.572	0.007
Mancha en el inicio de la SMV (MSM)	14.241	0.003	Línea dorsal oscurecida en apéndices femorales (LDF)	40.843	0.002
Numero de terguitos que abarca la mancha dorsal del abdomen (NTD)	17.729	0.038			
Numero de setas del cerci (NSC)	23.053	0.006			
Línea dorsal oscurecida en apéndices femorales (LDF)	40.076	0.000			

Tabla 4. Análisis de X². En la tabla se muestran las características de machos y hembras que de acuerdo a la significancia muestran dependencia por una o más regiones de estudio, es decir su frecuencia de aparición es significativamente diferente entre las regiones de estudio.

La frecuencia de aparición de las variables morfológicas que muestran dependencia por alguna región de estudio se describe en las siguientes tablas de contingencia:

Posición de sensila en escapo (PS): 2=media; 3=inferior					
Sexo			(PS)		Total
			2	3	
♂	ESTADO	Colima	0	48	48
		Nuevo León	3	14	17
		Tamaulipas	24	18	42
		Michoacán	14	14	28
	Total		41	94	135

Tabla 5. Posición de sensila en escapo (PS). La mayoría de los machos analizados presentaron las sensilas del escapo en la parte inferior, para Tamaulipas la mayoría de los machos presentaron la sensila en la parte media, los machos provenientes del estado de Michoacán presentaron las sensilas tanto en la parte media como en la parte inferior en una proporción 1:1, mientras que para Colima y Nuevo León la mayoría las presentó en la parte inferior.

Línea oscura en la parte ventral del escapo (LE): 1=presente; 2=ausente					
Sexo			(LE)		Total
			1	2	
♂	ESTADO	Colima	47	1	48
		Nuevo León	13	4	17
		Tamaulipas	34	8	42
		Michoacán	24	4	28
	Total		118	17	135

Tabla 6. Línea oscura en la parte ventral del escapo (LE). La mayoría de los individuos presentaron una línea oscura en la parte ventral del escapo, solo algunos ejemplares de cada región de estudio no la presentaron pero si poseían las sensilas. En Tamaulipas fue donde se presento el mayor número de individuos sin la línea oscura.

Largo de setas funiculares (LSF): 3= dos funículos; 4=tres funículos; 5=cuatro funículos; 7=más de cuatro funículos							
Sexo		(LSF)				Total	
		3	4	5	7		
♂	ESTADO	Colima	1	24	22	1	48
		Nuevo León	0	9	8	0	17
		Tamaulipas	0	6	31	3	40
		Michoacán	0	11	14	3	28
	Total	1	50	75	7	133	

Tabla 7. Largo de setas funiculares (LSF). En la tabla se muestra que el largo de setas funiculares fue de tres a cuatro funículos en la mayoría de los ejemplares analizados sin importar la región de estudio.

Forma de longitud de funículos (FLF): 1= en forma creciente; 2=decreciente; 3=irregular						
Sexo			(FLF)			Total
			1	2	3	
♀	ESTADO	Colima	1	21	1	23
		Nuevo León	0	24	9	33
		Tamaulipas	0	26	25	51
		Michoacán	0	16	5	21
	Total		1	87	40	128

Tabla 8. Forma de longitud de funículos (FLF). La mayoría de las hembras presentaron un patrón de longitud de funículos de forma decreciente, es decir el segundo funículo era más pequeño que el primero, y el tercero más pequeño que el segundo, algunos ejemplares no cumplieron con este patrón. Cabe destacar que en Tamaulipas la proporción de funículos en forma decreciente fue casi la misma que funículos irregulares.

Color de cuerpo (CP): 1= oscuro; 2=pardo				
		1	2	Total
♂	Colima	30	18	48
	Nuevo León	12	5	17
	Tamaulipas	32	10	42
	Michoacán	28	1	29
	Total	102	34	136
♀	Colima	17	6	23
	Nuevo León	18	16	34
	Tamaulipas	52	1	53
	Michoacán	21	0	21
	Total	108	23	131

Tabla 9. Color de cuerpo (CP). La mayoría (210) de los ejemplares hembras y machos de todas las regiones de estudio presentaron coloración oscura. Entre los ejemplares de Colima se encontró el mayor número de ejemplares (18 ♂) color pardo, mientras que en Nuevo León la frecuencia de aparición de hembras color pardo fue similar a la frecuencia de aparición de hembras color oscuro.

Mancha en el inicio de la SMV (MSM): 1=presente; 2=ausente					
Sexo			(MSM)		Total
			1	2	
♂	ESTADO	Colima	39	9	48
		Nuevo León	17	0	17
		Tamaulipas	26	16	42
		Michoacán	26	3	29
	Total	108	28	136	

Tabla 10. Mancha en el inicio de la SMV (vena submarginal) (MSM). Como se aprecia en la tabla en todas las regiones de estudio se encontraron ejemplares que presentan una mancha oscura en el inicio de la SMV, dicho estado de carácter ha sido muy consistente. No obstante existieron ejemplares en donde esa mancha se encontraba ausente, la mayoría proveniente de Tamaulipas.

Número de tergitos que abarca la mancha dorsal de abdomen (NTD): 1=un terguito; 2=dos tergitos; 3=tres tergitos; 4=cuatro tergitos; 5=cinco tergitos							
		1	2	3	4	5	Total
♂	Colima	2	44	0	0	0	46
	Nuevo León	0	17	0	0	0	17
	Tamaulipas	2	39	0	0	0	41
	Michoacán	3	23	3	0	0	29
	Total	7	123	3	0	0	133
♀	Colima	0	0	5	17	1	23
	Nuevo León	0	0	2	31	0	33
	Tamaulipas	0	0	10	43	0	53
	Michoacán	0	0	0	21	0	21
	Total	0	0	17	112	1	130

Tabla 11. Número de tergitos que abarca la mancha dorsal del abdomen (NTD). En machos el número de tergitos que abarca la mancha dorsal del abdomen fue de 1-2 siendo el más común 2 tergitos, mientras que para hembras la mancha dorsal del abdomen abarca de 3-5 tergitos, siendo lo más común 4 tergitos.

Numero de setas del cerci (SC): 1= dos; 2=tres; 3= más de tres						
Sexo			(NSC)			Total
			1	2	3	
♂	ESTADO	Colima	1	4	43	48
		Nuevo León	2	6	8	16
		Tamaulipas	2	10	28	40
		Michoacán	0	9	20	29
	Total	5	29	99	133	

Tabla 12. Número de setas del cerci. Como se muestra en la tabla el número de setas fue variante pero en la mayoría de los ejemplares se encontraron comúnmente hasta cuatro setas.

Línea dorsal oscurecida en alguno de los siguientes apéndices femorales (LDF): 1=en todos; 2=profemur; 2=mesofemur; 3=metafemur; 5=profemur y mesofemur; 6=profemur y metafemur; 7=mesofemur y metafemur; 8=ausente *										
Sexo			(LDF)							Total
			1	2	3	5	6	7	8	
♂	ESTADO	Colima	21	0	15	0	2	4	6	48
		Nuevo León	8	1	3	1	0	0	4	17
		Tamaulipas	21	0	9	0	1	8	3	42
		Michoacán	3	0	19	0	0	1	6	29
	Total		53	1	46	1	3	13	19	136
♀	ESTADO	Colima	5	0	2	0	0	1	15	23
		Nuevo León	4	5	1	1	1	0	21	33
		Tamaulipas	1	0	14	1	2	3	31	52
		Michoacán	0	0	3	0	0	0	18	21
	Total		10	5	20	2	3	4	85	129

Tabla 13. Línea dorsal oscurecida en apéndices femorales (LDF). Se encontró que los machos presentan una línea dorsal oscurecida en fémur, la mayoría (53 de 136) la presentaron en todos los apéndices femorales, después algunos (53) la presentaron en metafemur. Las mayoría de las hembras (85 de 133) no presentaron línea dorsal oscurecida en fémur, sin embargo las que la presentaron fueron mayormente en metafemur, después en profemur, mesofemur, las combinaciones de profemur y mesofemur, profemur y metafemur y finalmente mesofemur y metafemur.

7.3. Análisis morfométrico

De acuerdo al ANOVA ninguna variable fue significativa en hembras debido a la homogeneidad de los datos. De igual manera en el ACP de las hembras se encontró que las longitudes son muy homogéneas entre las regiones de estudio, por lo tanto no se encontró alguna diferencia significativa entre los datos, y en consecuencia todas las variables se encontraron en el mismo único componente.

A partir del ANOVA realizado con machos se obtuvieron variables significativas las cuales son: longitud total (LT, 0.001*: F, 5.903), ancho de tórax (ATX, 0.020*: F, 3.432), longitud abdominal (LAB, 0.001*: F, 5.889) y longitud de antenas (LA, 0.005*: F, 4.549), y de acuerdo a la prueba de Tukey, las medias de cada una de estas variables son similares entre las regiones de Nuevo León, Tamaulipas y Michoacán, mientras que las de Colima difieren. Al realizar el ACP con machos, se obtuvieron dos componentes, de los cuales, en el primer componente las variables: longitud abdominal (LAB) y longitud total (LT) presentaron los valores más altos 0.814 y 0.767 respectivamente, mientras que en el componente 2 las variables: longitud de funículo 4 (LF4) y longitud de funículo 3 (LF3) presentaron los valores más altos 0.662 y 0.649 respectivamente, por lo tanto se determinó el primer componente como es el más confiable. Gracias a que en el ACP se determinó la existencia de dos grupos (2 componentes), se realizó un AD, en el cual la única variable discriminada con significancia de 0.001* y una lambda de 0.859, fue largo

total (LT), lo cual significa que el largo total de los machos, es la única variable que difiere entre hembras y machos.

7.4. Análisis molecular

Posterior a la caracterización morfológica y morfométrica de los ejemplares se procedió al procesamiento de estos. Después de realizar la extracción de ADN se realizó la amplificación (PCR) del gen *CO-I*, del cual se obtuvieron bandas de aproximadamente 550pb (Figura 7). Los productos de PCR se enviaron a secuenciar y una vez obtenidas las secuencias se revisaron los cromatogramas con el fin de verificar la calidad de las secuencias, esto es, que la fluorescencia expresada por cada base nitrogenada estuviese bien definida y que los picos de fluorescencia no se traslaparan (Figura 8).

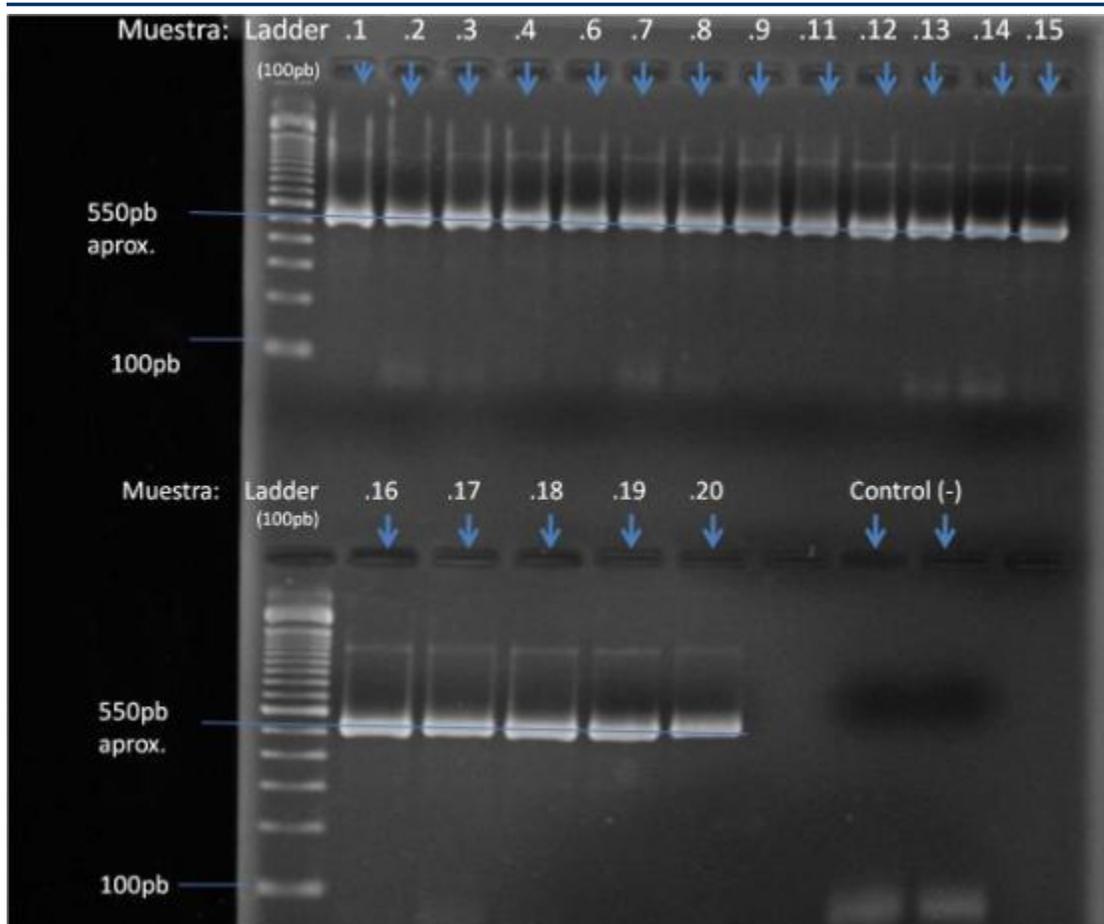


Figura 7. Productos de PCR. En la fotografía se muestran los productos de PCR amplificados con el gen *CO-I* de 550pb aproximadamente en un gel de agarosa al 2%.

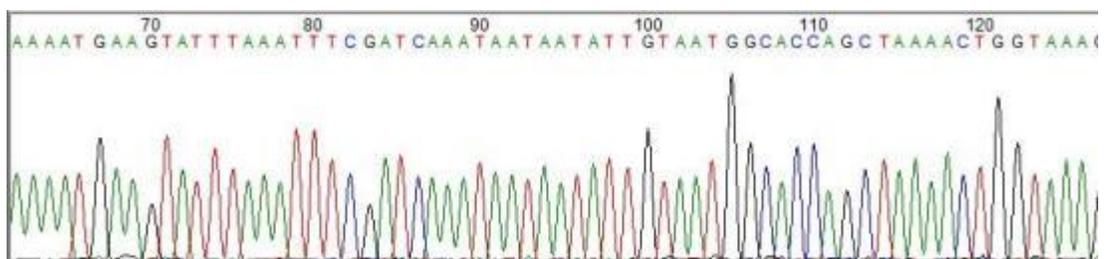


Figura 8. Cromatograma. En la fotografía se muestra un fragmento de una de las secuencias obtenidas del gen *CO-I*, considerada confiable gracias a la definición que presentan los picos de fluorescencia y la ausencia de traslape de los mismos.

Entre las secuencias del gen *CO-I* de *Tamarixia radiata* de 550pb se identificaron dos haplotipos: el haplotipo 1(h1) y haplotipo2 (h2) (Tabla 21):

Haplotipo	Posición: número de nucleótido		Frecuencia (# individuos)	Estado de la república
1	43	399		
	T	G	10	Colima
			8	Nuevo León
			8	Tamaulipas
			8	Michoacán
2	C	T	4	Tamaulipas

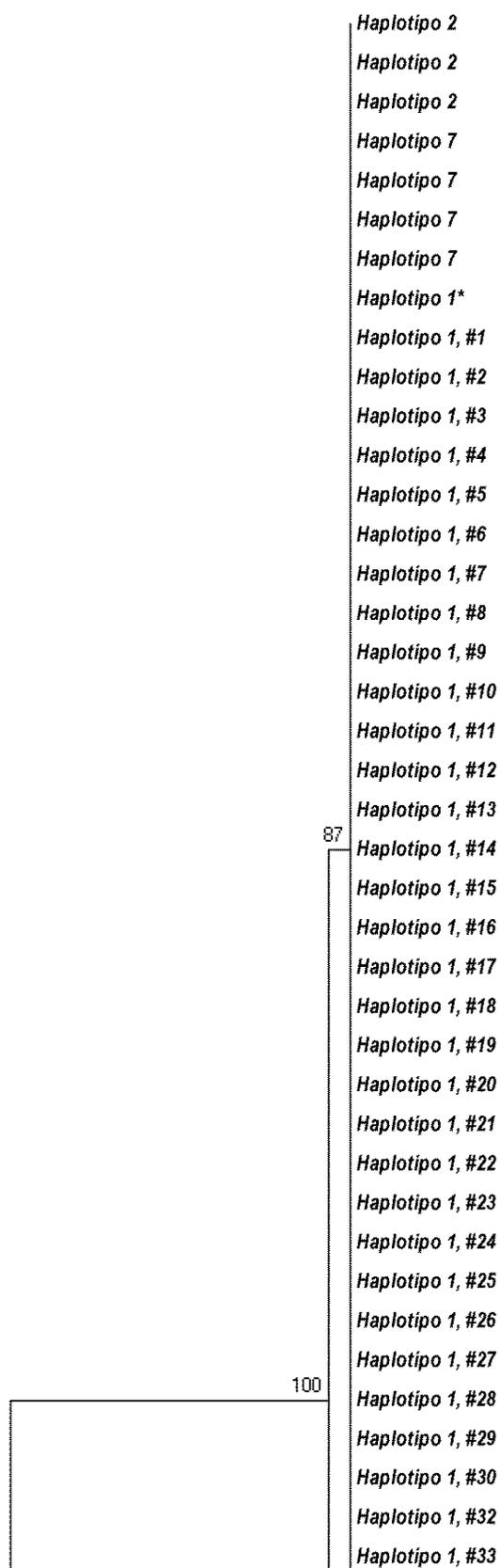
Tabla 14. Haplotipos. La tabla muestra los haplotipos obtenidos a partir de secuencias del gen *CO-I* en *Tamarixia radiata*, la frecuencia de individuos que lo representaron y el estado de la república en donde se encontraron.

En la Figura 9 se muestra el árbol generado a partir de las secuencias obtenidas en esta investigación y las secuencias obtenidas del banco de genes (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). De arriba hacia abajo, en la primer rama se muestran los haplotipos reportados en estudio previos correspondientes al Haplotipo 1 de este estudio: Haplotipo 2 de Barr *et al.* (2009) (Florida, Texas, E.U.A.), Haplotipo 7 de De León & Setamou. (2010) (Texas, E.U.A, y Sonora, México), Haplotipo 1 de González-Hernández *et al.* (2010 a,b) distinguido por un asterisco* (Campeche, Colima, Michoacán, N.L., Oaxaca, Q. Roo, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán, México). Además se observa el haplotipo 1 localizado en los estados de Colima (Haplotipo 1, #25-34),

Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston)...

Michoacán (Haplotipo 1, #1-8), Nuevo León (Haplotipo 1, #17-24) y Tamaulipas (Haplotipo 1, #9-16).

En la segunda rama se muestran todos los haplotipos correspondientes al Haplotipo 2 de este estudio: Haplotipo 1 de Barr *et al.* (2009) (Florida, Texas, E.U.A.), Haplotipo 2 de De León & Setamou (2010) distinguido por dos asteriscos ** (Florida, E.U.A.), Haplotipo 2 de González Hernández *et al.* (2010 a,b) distinguido por un asterisco* (Yucatán). El Haplotipo 2 de este estudio se localizó solamente en el estado de Tamaulipas (Haplotipo 2, #1-4).



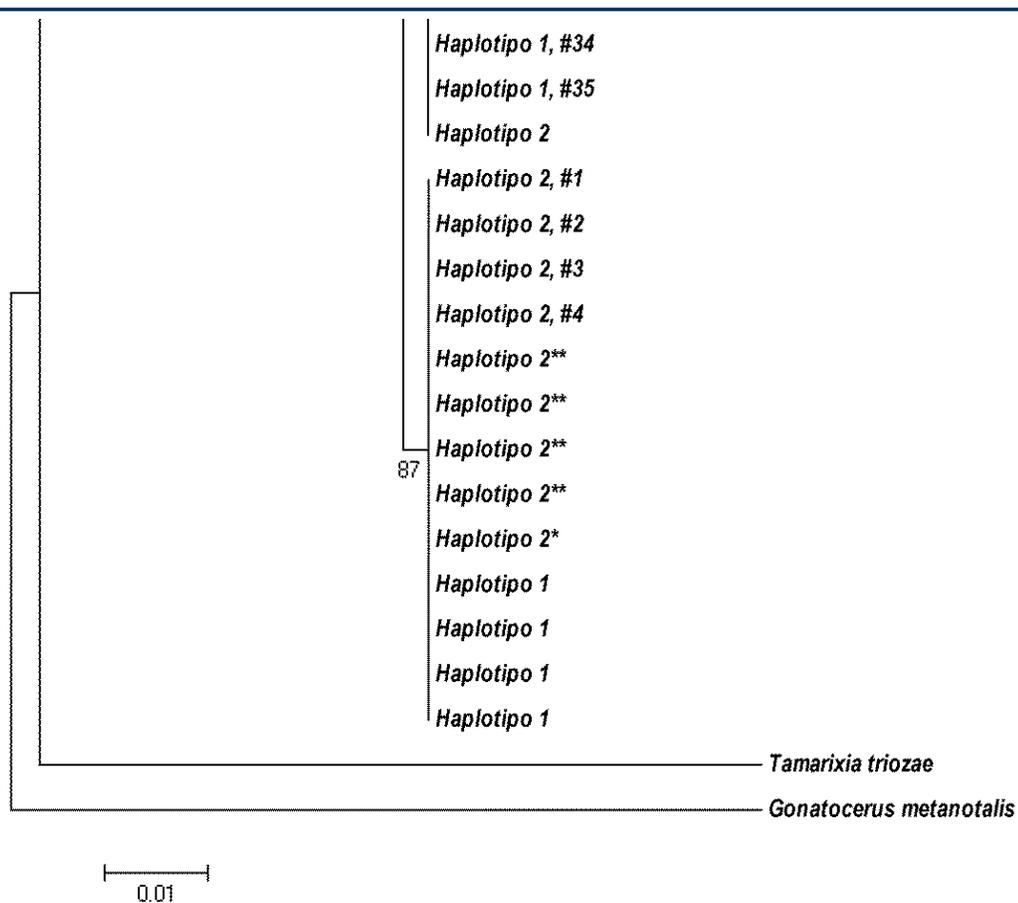


Figura 9. Árbol de Neighbor-Joining que muestra la distancia genética entre los haplotipos de *Tamarixia radiata*, el árbol fue inferido mediante el modelo de 3 parámetros de Tamura y junto a cada rama se muestra el porcentaje bootstrap basado en 1000 replicas. Se han incluido a las especies *Tamarixia triozae* y *Gonatocerus metanotalis* (HYMENOPTERA: MYMARIDAE) como grupos externos para demostrar que la variación genética encontrada es intraespecífica.

Como se muestra en la Figura 10 y Tabla 15, los haplotipos obtenidos también han sido reportados por otros investigadores en Estados Unidos de América y en distintos estados de la república mexicana.

INVESTIGADOR	HAPLOTIPO	
	1	2
Peña-Carrillo 2012	1	2
Barr <i>et al.</i> 2009	2	1
De León & Setamou 2010	7	2
González Hernández <i>et al.</i> 2010	1	2

Tabla 15. Comparación de haplotipos. En la siguiente tabla se muestra una comparación de los haplotipos encontrados con los que han reportado algunos investigadores y como los han nombrado.

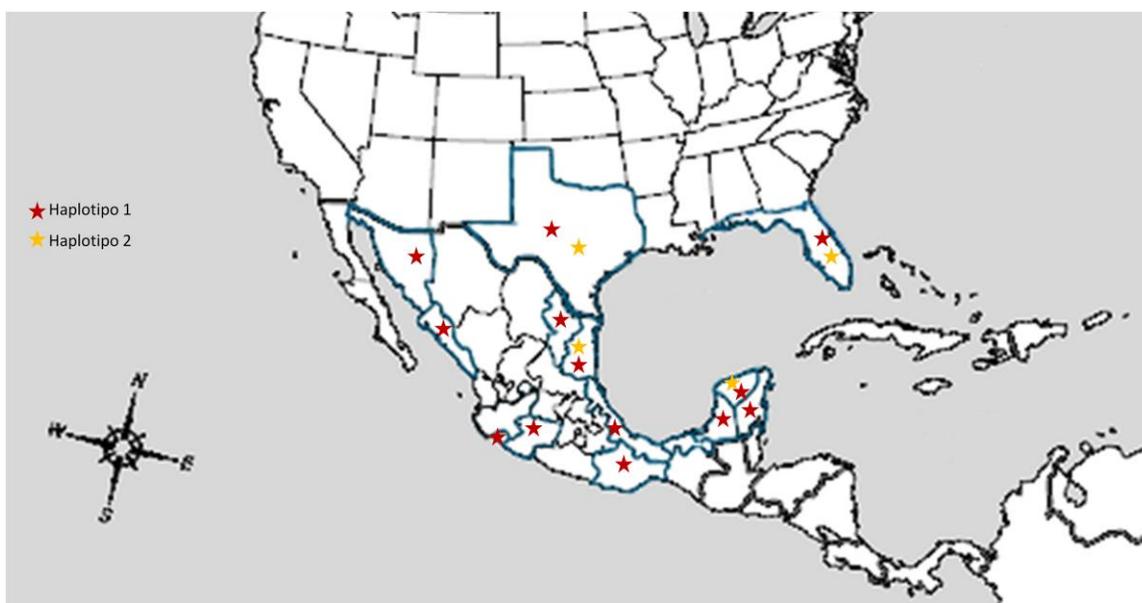


Figura 10 Distribución de haplotipos uno y dos en América del norte.

8. DISCUSIÓN

A partir del análisis morfológico de *Tamarixia radiata* se puede inferir que la variación cromática de la especie coincide con la variación documentada en investigaciones anteriores (Waterston, 1922; Gómez-Torres, 2009; González-Hernández *et al.*, 2009, 2010a y b).

Gómez-Torres (2009) separo ejemplares de *T. radiata* de Brasil en cuatro grupos cromáticos los cuales fueron determinados por la coloración de extremidades (patas), las cuales menciona que pueden ser amarillas u oscurecidas, dicha variación cromática es similar a la que se reporta en esta investigación solo que a diferencia de los estudios de Gómez-Torres (2009) quien reporta variación cromática solo en hembras, en esta investigación también se consideran los machos, así como su frecuencia de aparición. Gómez-Torres (2009) no menciona la existencia de especificidad de alguno de esos grupos cromáticos por alguna de las regiones en que realizó las colectas, por lo que se supone que en Sao Paulo es de distribución aleatoria. En esta investigación con el análisis de X^2 se demuestra que aunque la variación se puede encontrar en cualquier región de estudio, existen caracteres cuya frecuencia de aparición depende de las zonas de estudio (ver Tabla 4), es decir, su frecuencia de aparición es mayor en algunas zonas que otras.

Además de la variación cromática de patas (Figura 3), en México los ejemplares de *T. radiata* muestran variación cromática también en cuerpo pudiéndose encontrar en color

oscuro o pardo (Figura 1,2). Para este estudio la forma parda de *Tamarixia* fue la menos abundante entre las muestras tanto para hembras como para machos (Tabla 9), cabe destacar que en Michoacán el color pardo solamente se encontró representado por un macho, mientras que no se encontraron hembras con esta característica. Diversos autores señalan que la temperatura es uno de los principales factores ambientales que ejerce un efecto directo en la morfología y coloración de insectos, los cuales en muchos casos al desarrollarse en altas temperaturas desarrollan colores claros (Chapman, 1998; Wagner *et al.*, 1984), esto coincide la frecuencia de aparición de los ejemplares color pardo, la cual fue mayor en la zona noreste (Nuevo León y Tamaulipas, Tabla 9) en donde predomina el clima seco (Servicio Meteorológico Nacional). Al igual que los ejemplares de coloración parda, los ejemplares que poseen patas claras (Figura 3) fueron más abundantes en hembras de la zona noreste, mientras que en Colima y Michoacán (zona oeste) fue mayor la cantidad de machos con patas claras que con oscurecimiento (Tabla 13). Solamente con un estudio dirigido se podría determinar la influencia de la temperatura en la variación morfológica, puesto que de los ejemplares de la zona oeste (particularmente Colima) no se conoce si el origen de los ejemplares es silvestre o provienen de las cepas de laboratorio que se encuentran bajo condiciones controladas, además de la estacionalidad en que fueron colectadas las muestras, que de acuerdo a la Tabla 1 los ejemplares de la zona oriente provienen en su mayoría de meses relativamente fríos, mientras que los de la zona noreste provienen de meses cálidos.

En el 2009 González-Hernández *et al.*, describió un parasitoide nativo al cual nombró *Tamarixia sp.*, sin embargo al comparar y analizar la descripción de dicho ejemplar con

la de este estudio es muy probable que pertenezca a la especie *T. radiata*, con la excepción de que carece de la mancha del gáster. Entre las muestras analizadas observó que la mancha dorsal del gáster es variante, comúnmente abarca de tres a cuatro terguitos aunque en ocasiones puede abarcar hasta cinco como se muestra en la Tabla 11, donde se observa que solamente en Colima se encontró esta variación de cinco terguitos. En los ejemplares de Michoacán la mancha abarcó solamente cuatro terguitos mientras que en N.L. y Tamaulipas de tres a cuatro. Por otra parte la mancha dorsal del gáster de machos se encuentra comúnmente abarcando dos terguitos pero en ocasiones solo abarca uno (Tabla 11), siendo menos frecuente esta forma y encontrándose solamente en Colima, Tamaulipas y Michoacán. De la misma manera que con la variación cromática de cuerpo y patas, se sugiere que la variación cromática del gáster podría ser influenciada por la temperatura, y que en el caso de la hembra carente de mancha en el gáster, reportada por González-Hernández *et al.*, (2009) la ausencia de mancha podría ser producto de una estrategia para conservar el calor ya que como lo mencionan Ellers & Boogs (2004) la melanización juega un papel importante en la termorregulación de los insectos, reiterando así la importancia de realizar estudios que evalúen el efecto de variables climáticas en la especie.

Otra variante cromática encontrada entre los parasitoides machos es la presencia de una línea dorsal oscurecida en el escapo, la cual se ausenta en algunos ejemplares mayormente en los provenientes de Tamaulipas (Tabla 6). Una observación similar a la presencia de esta línea en el escapo es mencionada por Burks (1944), en las descripción original de la especie *Tamarixia leucaenae* (*Tetrastichus leucaenae*) en donde se

menciona que esta especie, de distribución también mexicana presenta el pedicelo dorsalmente negro mientras que en el resto de las especies de distribución norteamericana no se hace referencia a esta característica. Finalmente en las alas se encontró una variable cromática más, la presencia de una mancha en el inicio de la vena submarginal (Figura 4) la cual en algunas ocasiones se encontró ausente, principalmente entre los ejemplares de Tamaulipas.

Además de la variación cromática, los parasitoides aquí estudiados también han presentado variación en las antenas: la posición de la sensila en escapo (Tabla 5) y el largo de setas funiculares en machos (Tabla 7), mientras que en hembras solamente la forma longitudinal de los funículos varió. Waterston (1922) señala que los machos de *Tamarixia* presentan los órganos sensoriales debajo del borde ventral del escapo, para lo cual la posición de la sensila fué en lo único que varió encontrándose mayormente hacia la parte inferior de este (Tabla 5), todos los ejemplares cumplen con la descripción de Waterston (1922).

En el estudio realizado por González-Hernández *et al.* (2008) se menciona que la longitud de setas funiculares del macho es importante para determinar especies de *Tamarixia*, se menciona que para las especies *T. radiata* y *T. triozae* las setas del primer segmento funicular del macho no alcanzan la clava, posteriormente González-Hernández *et al* (2009) vuelve a hacer mención sobre la importancia de las setas funiculares en la identificación de especies de *Tamarixia*, y hace referencia a un parasitoide de especie desconocida cuyas setas del primer funículo alcanzan la clava, es importante destacar que

entre los ejemplares analizados se encontraron pocos ejemplares que poseían esta característica y que solamente alcanzaban la parte basal de la clava (Tabla 7).

Por otra parte en las antenas de las hembras se observó que aunque la forma común de los funículos es decreciente, es decir el primero es más grande que el segundo y el segundo más grande que el tercero, se encontraron ejemplares en donde no se cumplió esta característica de forma estricta (Tabla 8). La característica de la forma de longitud de funículos decreciente es también compartida por las especies *T. triozae* y *T. dyra* de distribución norteamericana por lo cual esta variación posiblemente también se pueda presentar en dichas especies.

Cabe mencionar que hasta el momento información morfométrica de la especie se encontraba plasmada solamente en la descripción original del parasitoide (Waterston, 1922), en donde de forma breve se mencionan longitudes de algunos caracteres, entre ellos la longitud antenal que es de 0.7mm para ambos sexos, en este estudio la longitud antenal fue variante debido a que se encontró en rangos de 0.2-0.3mm en hembras, mientras que en machos de 0.2-0.5mm. La variabilidad presente en antenas de machos y hembras se podría ligar con procesos de apareamiento y parasitismo ya que como lo demuestra Onagbola *et al.*, (2009) las antenas de machos y hembras de *T. radiata* exhiben gran dimorfismo sexual sobre todo en sensilas que sirven para el reconocimiento sexual, así como el de hospederos.

Es importante resaltar que González-Hernández *et al.* (2010a) menciona que el tamaño de cuerpo de *T. radiata* varía, esto se ha corroborado en esta investigación pues entre los resultados morfométricos la única variable que estadísticamente (significancia

de 0.001) presenta mayor diferenciación es la longitud total de los machos (LT). Waterston (1922) menciona que la longitud total de los machos es de cerca de 1.1mm y en hembras de 1.3mm, en este estudio se encontró que puede llegar a ser hasta cerca de 2mm para ambos sexos. Tomando en cuenta que el ejemplar tipo fue descrito en Punjab, India, se considera que las diferencias morfométricas entre los ejemplares de esta investigación y los de la descripción original, podrían deberse a las diferentes condiciones ecológicas en que se desarrollaron.

Por otra parte, longitud abdominal, ancho de tórax, longitud de antenas son medidas que corroboran la gran variabilidad de los machos, para quienes aparentemente los cambios en tamaño no representan alguna desventaja puesto que comparándolos con las hembras fueron los únicos que variaron, posiblemente esta falta de variación en las hembras esté relacionada a su tarea reproductiva y por lo tanto los cambios en tamaño no serían favorables para la especie. De acuerdo con los resultados del AD la variación se concentra entre los ejemplares de Colima, y gracias a esto se debe tener presente la posibilidad de una diferenciación morfométrica entre los ejemplares provenientes de laboratorio y los de origen silvestre, debido a que es en Colima en donde se reproduce y libera *T. radiata* (Sánchez-González, 2011), de manera que los ejemplares de laboratorio podrían ser la causa de variación, hipótesis que solamente será comprobada con estudios morfométricos cuyo fin sea diferenciar colonias de laboratorio y silvestres, y en consecuencia dar pie a la evaluación del éxito reproductivo y niveles de parasitismo de ambas cepas .

Tamarixia radiata fue introducida y liberada en Florida a partir de poblaciones provenientes de colonias de Taiwán y Vietnam las cuales corresponden al haplotipo 1, que además de haber sido encontrado en Florida también se ha encontrado en Texas, y México (Barr *et al.* 2009; De León & Setamou, 2010; González-Hernández *et al.*, 2010a). Este haplotipo hasta el momento ha sido el de mayor distribución y el más frecuente entre el material examinado (Tabla 14). Como se muestra en la Figura 9 del árbol producido por el análisis filogenético, el haplotipo 1 se sitúa en la misma rama que los reportados por estudios previos indicando que se trata del mismo. De manera similar entre las poblaciones liberadas en Florida se encuentra el haplotipo 2 proveniente de poblaciones de Taiwán, Vietnam y China, y que fué encontrado en Florida, Texas y México (Barr *et al.*, 2009; De León & Setamou, 2010; González-Hernández *et al.*, 2010a), en la Figura 9 se muestra su igualdad con los haplotipos reportados por estudios previos al situarse en la misma rama que estos.

Con una frecuencia de cuatro individuos el haplotipo 2 se ha encontrado solamente en Tamaulipas (Tabla 14) y teniendo en cuenta la distribución que ha sido reportada en los ya mencionados estudios (Barr *et al.*, 2009; De León & Setamou, 2010; González-Hernández *et al.*, 2010 a, b), se sugiere que este haplotipo evidencia las posibles rutas de entrada del parasitoide a México, debido a que casualmente se ha quedado restringido a los estados de Tamaulipas y Yucatán. Como se muestra en la Figura 10 la región de Tamaulipas pudo haber servido como puente para la entrada del haplotipo 2, mientras que en Yucatán quien a su vez es uno de los estados de la republica mexicana que han mostrado mayor variabilidad genética representada por 3 haplotipos (H1, H2, H3)

podieron haber entrado a través de las islas del Caribe. Introducciones de pequeñas cantidades de individuos en una determinada zona podrían ser causa de homogeneidad genética (Wan *et al.*, 2012) y la explicación de por qué haplotipos como el dos tienen una distribución restringida, al igual que los haplotipos tres, cuatro y cinco de González-Hernández *et al.* (2010 a, b) (Figura 11), para los cuales no se descarta que su aparición en dichas zonas tenga como origen causas naturales o antropogénicas.

El gen *CO-I* es una región mitocondrial altamente conservada y de herencia materna con la cual se ha evidenciado que en la mayoría de los estados de la república mexicana existe poca variación genética en comparación con la encontrada en Texas y Florida, E.U.A. (Barr *et al.* 2009; De León & Setamou 2010; Wan *et al.*, 2012) mencionan que suficiente variación genética puede facilitar la adaptación a nuevos ambientes, y de acuerdo a esta premisa la dominancia de un solo haplotipo podría significar que se trata de poblaciones en proceso de adaptación, pero por otra parte también evidencia que la capacidad de dispersión de las poblaciones poseedoras de haplotipos como el dos es limitada, por lo tanto se considera la incursión de otras regiones mitocondriales, ribosomales ú nucleares con el fin de captar más variación y además se sugiere el uso marcadores moleculares con los cuales se pueda medir el flujo genético existente en y entre las poblaciones, para con ello inferir sobre la dinámica poblacional de la especie, la cual se sabe puede presentar partenogénesis que podría contribuir a la poca variación genética y la pérdida de flujo genético.



Figura 11. Distribución de haplotipos en México. En la imagen se representa cromáticamente cada haplotipo y se señala su presencia en diferentes estados de la republica mexicana.

9. CONCLUSIÓN

Tamarixia radiata es una especie que presenta variación morfológica, principalmente cromática entre machos y hembras. De acuerdo a los análisis realizados en esta investigación estadísticamente solo los machos analizados son quienes varían morfométricamente y dicha variación se encuentra concentrada entre los ejemplares de Colima, para los cuales se sugiere que la variación podría estar vinculada a la presencia de cepas de laboratorio y silvestres, puesto que Colima es un estado en donde como estrategia preventiva para el manejo del psílido se ha establecido un centro de reproducción de *Tamarixia radiata*, por lo tanto se sugiere la elaboración de estudios morfométricos cuyo fin sea la búsqueda de distinción entre cepas de laboratorio y silvestres. Con respecto a los análisis moleculares se sugiere que en México las poblaciones de *T. radiata* se encuentran en proceso de adaptación, puesto que a diferencia de las poblaciones de Estados Unidos que presentan cuando menos tres haplotipos en cada estado, en las zonas de estudio solamente se han encontrado dos, de los cuales uno es de distribución restringida, por lo tanto se ha sugerido la inclusión de otras regiones moleculares con las que se pueda captar más variación génica ó la utilización de marcadores moleculares con los cuales sea posible medir el flujo génico en y entre poblaciones y con ello monitorear la dinámica poblacional de la especie.

10. LITERATURA CITADA

Anon. 1967. Distribution maps of insect pests. Series A (Agricultural). Commonwealth Institute of Entomology Map No. 234.

Aubert B. 1987. Le greening, une maladie infectieuse des agrumes, d'origine bacterienne, transmise par de Homopteres psyllides: strategie de lutte developpee a l'ile de la Reunion. Circonstances epidemiologiques en Afrique/Asie et modalites d'intervention. IFRA/CIRAD, Nairobi, Kenya.

Aubert B., Grisoni M, Villemin, Rossolin G. 1996. A case study of Huanglongbing (greening) control in Reunion. In J.V. da Graca; P. Moreno and R.K. Yokomi (eds.), Proc. 13th Conference of the International Organization of Citrus Virologist (IOCV). University of California, Riverside. Pp. 276-278.

Baeza-Nahed U. 2008. Parasitoides del minador de la hoja de los cítricos y del psílido asiático en la costa de Oaxaca., Instituto Politécnico Nacional, Tesis de Maestría, Oaxaca, México. Pp.69.

Barr N.B., Hall D.G., Weathersbee A.A. III, Nguyen R., Stansly P., Qureshi J.A., Flores D. 2009. Comparison of Laboratory Colonies and Field Population of *Tamarixia radiata*, an ectoparasitoid of the Asian Citrus Psyllid, using ITS and COI DNA sequences. *Journal of Economic Entomology* 102(6):2325-2332.

Bhavakul K., Intavimolsri S., Vichitrananda S., Kratureuk C., Prommintara M. 1981. The current citrus disease situation in Thailand with emphasis on citrus greening. *Proceedings of the International Society of Citriculture*. Davao. Vol. 1: 464-466

Bové J.M. 1986. Greening in the Arab Peninsula: towards new techniques for its detection and control. *FAO Plant Protection Bulletin*. Rome. Vol. 34: 7-14.

Burks B.D. 1944. The North American parasitic wasps of the genus *Tetrastichus*. A contribution to biological control of insect pests. *Proceedings of the United States National Museum*, Washington, (93): 505-608.

Cáceres S., Aguirre M.R.A. 2005. Presencia de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoide del psílido asiático *Diaphorina citri* Kuwayama (Sternorrhyncha: Hemiptera: Psyllidae) en cultivos cítricos de Corrientes. VI Congreso

Argentino de Entomología, Tucumán, 12-15 Septiembre 2005. Resúmenes: Posters – Control Biológico – Control Químico – Manejo Integrado de Plagas. p. 223.

Chapman R.F. 1998. The insects: structure and function. Cambridge University, Press., New York, 4a ed.

Chien C.C., Chu Y.I. 1996. Biological control of citrus psyllid *Diaphorina citri* in Taiwan. Biological Pest Control in Systems of Integrated Pest Management. Reprinted from Food and Fertilizer Technology Center Book Series, Taipei, n. 47: 96-104.

Chung K.B., Brlansky R.H. 2009. Citrus diseases exotic to Florida: Huanglongbing (citrus greening). EDIS. <http://edis.ifas.ufl.edu/pp133> (24 June 2010).

Da Graca J.V. 1991. Citrus greening disease. Annu. Rev. Phytopathol. 29: 109-136.

Da Graca J.V., Korsten L. 2004. Citrus huanglongbing : Review, present status and future strategies. In : S.A.M.H. Naqvi (ed.) Diseases of fruits and vegetables, Vol. 1. Kluwer Academic Publisher. The Netherlands, p. 229-245.

De León J.H., Fournier V., Hagler J.R., Daane K.M. 2006a. Development of molecular diagnostic markers for sharpshooters *Homalodisca coagulata* and *H. liturata* for use in predator gut content examinations. *Entomol Exp. Appl.* 119: 109-119.

De León J.H., Jones W.A., Setamou M., Morgan D.J.W. 2006b. Genetic and hybridization evidence confirms that a geographic population of *Gonatocerus morrilli* (Hymenoptera:Mymaridae) from California is a new species: egg parasitoids of the glassy-winged sharpshooter *Homalodisca coagulata* (Homoptera:Cicadellidae). *Biol. Control* 38:282-293.

De León J.H., Logarzo G.A., Triapitisin S.V. 2008. Molecular characterization of *Gonatocerus tuberculifemur* (Oglobin) (Hymenoptera:Mymaridae), a prospective *Homalodisca vitripennis* (Germar) (Hemiptera:Cicadellidae) biological control candidate agent from South America: divergent clades. *Bull. Entomol. Res.* 98:97-108.

De León J.H., Setamou M. 2010. Molecular Evidence suggests that populations of the Asian citrus psyllid parasitoid *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) from Texas, Florida, and Mexico represent a single species. *Annals of the Entomological Society of America* 103(1): 100-110.

Ellers J., Boogs C.L. 2004. Functional ecological implications of intraspecific differences in wing melanization in *Colias* butterflies. *Biological Journal of the Linnean Society.* 82:79-87.

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

Fraser L.R. 1978. Recognition and control of citrus virus diseases in Australia. *Proceedings of the Internal Society of Citriculture*, Sydney, Pp. 178-181.

Fawcett H.S. 1936. *Citrus diseases and their control*. McGraww-Hall, New York.

Gibson G.A., Huber J.T., Woolley J.B. 1997. *Annotated Keys to the Genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera)*. NRC Research Press. Ottawa. Pp. 791.

Gómez-Torres .M.L., Nava D.E., Gravena S., Costa V.A., Parra J.R.P. 2006. Primeiro registro de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: Eulophidae) en *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) no Brasil. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, (81): 112-117.

Gómez-Torres M.L. 2009. *Estudos bioecológicos de Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama, 1907 (Hemiptera: Psyllidae). Tesis Doutorado, Universidad de São Paulo, Piracicaba. p139.

González-Hernández A., Lomelí-Flores R., García-Negro B. 2008. Determinación de parasitoides de *Bactericera cockerelli* (Sulc) en México. Pp. 101-103. *In*: Lozano-Gutierrez J., España-Luna M.P., González Gaona E., Ibarra Rendón J.E. 2008. Memorias del XXXI Congreso Nacional de Control Biológico. Zacatecas, Zac. ISBN: 968-9099-10-8.

González-Hernández A., Arredondo-Bernal H.C., Robles-González M., Martínez-Carrillo J.L., Pérez J., López-Arroyo J.I. 2009. Determinación de especies de parasitoides del psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en México. *Entomología Mexicana*. 8:373-377.

González-Hernández A., Canales-Castillo R., López-Arroyo J.I., Villanueva-Segura O.K., Arredondo-Bernal H.C., Jasso-Argumedo J. 2010a. Variabilidad morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (Waterston, 1922) (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoides del psílido asiático de los cítricos en México. *In*: Sánchez-Martínez R., Miranda-Salcido M.A., Muñoz-Flores H.J., Lara-Chávez M.B.L., y Coria-Avalos V.M. 2010. Memoria de los Simposios. XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Memoria científica Núm. 3. SAGARPA. INIFAP. Campo experimental Uruapan. Uruapan, Michoacán, México.

González-Hernández, A., J. Jasso-Argumedo, R. Cruz-García, M. Contreras-Lozano, J. I. López-Arroyo, O.K. Villanueva-Segura. 2010b. Determinación de parasitoides y caracterización de haplotipos de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera:

Eulophidae), en *Diaphorina citri* en la Península de Yucatán, México, pp. 259-267. In: López Arroyo, J.I., González Lauck, V.W. (Comp.). Memoria 1er Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México, Monterrey, N.L., México del 8 y 9 de diciembre, 2010. Centro Regional de Investigación del Noreste (CIRNE), Campo Experimental General Terán. CD Room. Memoria Científica. ISBN en trámite. 479 p.

Graham M.W.R.V. 1991. A reclassification of the European Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae): revisión of the remaining genera. *Memoirs of the American Entomological Institute, Ann. Arbor* (49): 307-320.

Halbert, S.E., Nuñez C.A. 2004. Distribution of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean Basin. *Fla. Entomol.* 87: 401-402.

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.

Lebel-Tamesse J. 2009. Key for identification of the Hymenopteran parasitoids of the African citrus psylla *Trioza erythrae* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae) in Cameroon. *African Journal of Agricultural Research.* Vol. 4(1).

Lizondo M.J., Gastaminza G., Costa V.A., Augier L., Gomez T.M.L., Willink E., Parra J.R.P. 2007. Records of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) in Northeastern Argentina. *Revista Industrial y Agrícola de Tucumán*, Tucumán, (84): 21-22.

López-Arroyo J.I., Jasso J., Reyes M.A., Loera-Gallardo J., Cortez-Mondaca E., Miranda M.A. 2008. Perspectives for biological control of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in México, pp. 329-330. *In*: T.R. Gottwald and J.H. Graham Proceedings of the International Research Conference on Huanglongbing. Dec. 1-5, 2008. Orlando, Florida.

López-Arroyo J.I.; Reyes M.A.; Loera-Gallardo J.; González-Hernández A. 2009. Producción de *Tamarixia radiata* (Waterston) (Hymenoptera: *Eulophidae*), parasitoide del psílido Asiático de los Cítricos. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de Control Biológico, Sociedad Mexicana de Control Biológico*. Villahermosa, Tabasco, México. pp 137-141.

López-Arroyo J.I., González Hernández A., Reyes-Rosas M.A., Rodríguez R., Lozano-Contreras M., Jasso-Argumedo J., Cortez-Mondaca E., Loera-Gallardo J. 2010.. Avances en la investigación para el control biológico de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) en la citricultura de México. Pp. 87-98. *In*: Sánchez-Martínez R., Miranda-Salcido M.A., Muñoz-Flores H.J., Lara-Chávez M.B.L., y Coria-Avalos V.M. 2010.

Memoria de los Simposios. XXXIII Congreso Nacional de Control Biológico. Memoria científica Núm. 3. SAGARPA. INIFAP. Campo experimental Uruapan. Uruapan, Michoacán, México.

López-Collado J. 2011. Huanglongbing HLB en México.

<http://sites.google.com/site/diaphorina/> (16-04-2012)

Martínez A.L., Wallace J.M. 1967. Citrus leaf mottle-yellow disease in the Philippines and transmission of the causal virus by a psyllid, *Diaphorina citri*. Plant Disease Reporter. Washington. V. 58, p. 692-695.

Mayorga-Castañeda F.J. 2010. Acuerdo por el que se dan a conocer las medidas fitosanitarias que deberán aplicarse para el control del huanglongbing (*Candidatus Liberibacter spp.*) y su vector. Diario Oficial de la Federación. México. Lunes 16 de agosto de 2010.

Mead F. W., Fasulo T. R.. 2010 Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae). University of Florida. IFAS Extension.

Michaud J. P. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. Biological Control, Orlando, (29): 260-269.

Moreno-Enríquez A., Minero-García Y., Loeza-Kuk E., Uc-Varguez A., Moreno-Valenzuela O. A. 2011. Diversidad Molecular del gen 16S rDNA en Candidatus *Liberibacter asiaticus* en aislados de cítricos de la península de Yucatán. 2p. En: López-Arroyo, J.I., Gonzalez-Lauck, V.W. (Comp.). Memoria: 2º Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítrico y el Huanglongbing en México, Montecillo, Edo. de México, del 5 y 6 de Diciembre, 2011. Centro Regional de Investigación del Noreste (CIRNE), Campo Experimental General Terán. CD-ROM. Memoria Científica. ISBN 978-607-425-680-2. 424p.

Onagbola E.O., Boina D.R., Hermann S.L., Stelinski L.L. 2009. Antennal Sensilla of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), a Parasitoid of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 102(3): 523-531.

Pluke R.W.H.; Escribano A., Michaud J.P., Stansly P.A. 2003. Potencial impact of lady beetles on *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) in Puerto Rico. Florida Entomologist, Gainesville, (88): 123-128.

Román P., Cambra M., Juárez J., Moreno P., Duran-Vila N., Tanaka F. A. O., Alves E., Kitajima E. W., Yamamoto P. T., Bassanezi R. B., Teixeira D. C., Jesus Jr W. C., Ayres A. J., Gimenes-Fernandes N., Rabenstein F., Girotto L. F., & Bové J. M.. 2004.

Sudden death of citrus in Brazil: a graft-transmissible bud union disorder. *Plant Dis.* 88:453-467.

Salcedo D., Hinojosa R., Mora G., Covarrubias I., De Paolis F., Cántora C., Mora S. 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://portal.hlbcolima.org/descargas/item/59-cadena-citricola-mexicana.html>

Sánchez-González J. A. 2011. Cría masiva, liberación y evaluación en campo de *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae). 6pp. En: López-Arroyo, J.I., Gonzalez-Lauck, V.W. (Comp.). Memoria: 2º Simposio Nacional sobre Investigación para el Manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México, Montecillo, Edo. de México, del 5 y 6 de Diciembre, 2011. Centro Regional de Investigación del Noreste (CIRNE), Campo Experimental General Terán. CD-ROM. Memoria Científica. ISBN 978-607-425-680-2. 424p.

SENASICA (16/02/2011). Comunicaciones, Notificaciones y Noticias sobre HLB y su vector. <http://www.senasica.gob.mx/>

Servicio Meteorológico Nacional (SMN) (18-08-2012). Clima en México. <http://smn.cna.gob.mx/>

Simon C., Frati F., Bechenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87: 651-701.

Tamura K, Nei M., Kumar S. 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035

Torres M.G., Parra J.R.P. 2008. Bioecology of *Diaphorina citri* and *Tamarixia radiata*: zoning for citrus groves of the Statate of Sao Paulo. Page 275 in Proceeding of the International Research Conference of Huanglongbing, Orlando, Florida.

Wagner T.L., Wu H., Sharpe P.J.H., Schoolfield R.M., Coulson R.N. 1984. Modeling insect development rates: a literature review and application of a biophysical model. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 77:208-225.

Wan X., Liu Y., Zhang B. 2012. Invasion History of the Oriental Fruit Fly, *Bactrocera dorsalis*, in the Pacific-Asia Region: Two Main Invasion Routes. *PLoS ONE* 7(5): e36176. doi:10.1371/journal.pone.0036176

Waterston J.B.D. 1922. On the Chalcidoid parasitoids of psyllids (HEMIPTERA, HOMOPTERA). Bulletin of Entomological research. Vol. XIII, Pt. 1: 55-58.

RESUMEN BIBLIOGRÁFICO

Kenzy Ivvetth Peña Carrillo

Candidata para el Grado de

Maestra en Ciencias con acentuación en Entomología Médica

Tesis: Variación morfológica y genética de *Tamarixia radiata* (WATERSTON)
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE) en los estados de Colima, Nuevo León, Tamaulipas
y Michoacán, México.

Datos personales: Nacida en Monterrey N.L., el 4 de Agosto de 1985, hija de Marcial
Peña Ovalle y María Concepción Carrillo Muñoz.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido de
Biólogo.