



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

**PREFERENCIA DE TAMAÑO DE PRESA Y  
RESPUESTA FUNCIONAL DE *Chrysoperla  
externa* (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)  
SOBRE *Diaphorina citri* (HEMIPTERA:  
PSYLLIDAE)**

**Evelin Idalicia PECHI MIDÓN**

Magíster en Ciencias Agrarias opción Ciencias  
Vegetales

Diciembre 2021

Tesis aprobada por el tribunal integrado por Dra. Carmen Viera (Presidente), Dra. Gabriela Asplanato (Vocal) y Ing. Agr. Msc. Alvaro Otero (Vocal), el día 10 del mes de diciembre del año 2021.

Autora: Ing. Agr. Evelin Pechi Midón

Director: Dr. César Basso

Co-director: Dr. Tomás Cabello

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Director Dr. César Basso y Co-director Dr. Tomás Cabello por confiar en mí, por sus aportes y dedicación durante este proceso.

A la Universidad de la República en especial a la Facultad de Agronomía por haberme permitido realizar el posgrado.

A la Agencia Nacional de Investigación e Innovación por las becas de Maestría y Movilidad.

Al Dr. Francisco José Sosa Duque por permitirme realizar una pasantía bajo su tutoría, su paciencia, dedicación y motivación a seguir formándome en taxonomía de crisópidos.

Al Centro Nacional de Referencia de Control biológico, en especial a Jorge Sánchez y su equipo por recibirme, compartir sus experiencias y conocimientos los cuales han sido muy valiosos en esta investigación.

A Gabriela Asplanato por la oportunidad de trabajar en plagas de cítricos e incentivarme a descubrir a los crisópidos.

A Soledad Delgado, Victoria Calvo, Beatriz Scatoni y Rodrigo Olano por todo el apoyo brindado en momentos claves de este trabajo.

A la Estación experimental de INIA Salto Grande en especial a Verónica Galván, Abel Rodríguez, Juan Amaral, José Buenahora y Virginia Pereira das Neves por la provisión de presas.

Por último, quiero agradecer a mi familia, por brindarme su apoyo incondicional y paciencia.

## TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VI
SUMMARY.....	VII
<b>1. <u>INTRODUCCIÓN</u>.....</b>	<b>1</b>
1.1. EL PSILIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS <i>Diaphorina citri</i> Kuwayama.....	2
1.2. DESCRIPCIÓN Y ASPECTOS BIOECOLÓGICOS.....	2
1.3. DAÑOS.....	3
1.3.1. <u>Huanglongbing (HLB)</u> .....	4
1.4. MANEJO DE <i>D. citri</i> .....	5
1.4.1. <u>Control químico</u> .....	5
1.4.2. <u>Control biológico</u> .....	6
1.4.2.1. <i>Chrysoperla externa</i> .....	8
1.4.2.2. Preferencia de los depredadores por las presas.....	9
1.4.2.3. Respuesta funcional.....	11
1.5. OBJETIVOS.....	14
1.5.1. <u>Objetivo general</u> .....	14
1.5.2. <u>Objetivos específicos</u> .....	14
1.6. HIPÓTESIS.....	14
<b>2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>.....</b>	<b>15</b>
2.1. LUGAR DE REALIZACIÓN Y MATERIAL BIOLÓGICO UTILIZADO.....	15
2.2. CONDICIONES GENERALES DE LOS EXPERIMENTOS.....	16
2.3. ENSAYOS “SIN ELECCIÓN” DE PRESAS.....	17
2.4. ENSAYOS “CON ELECCIÓN” DE PRESAS.....	18
2.5. ENSAYOS PARA EL CÁLCULO DE RESPUESTA FUNCIONAL.....	18
2.5.1. <u>Cálculo de la respuesta funcional</u> .....	19
2.5.2. <u>Determinación del tiempo de búsqueda y el tiempo de manipulación</u> .....	20

3. <u>RESULTADOS</u> .....	22
3.1. ENSAYO “SIN ELECCIÓN” DE PRESAS.....	22
3.2. ENSAYO “CON ELECCIÓN” DE PRESAS.....	23
3.3. RESPUESTA FUNCIONAL.....	23
3.3.1. <u>Tiempo de búsqueda</u> ( $T_s$ ).....	25
3.3.2. <u>Tiempo de manipulación</u> ( $T_h$ ).....	27
3.3. DISCUSIÓN.....	29
4. <u>CONCLUSIONES</u> .....	35
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	36
6. <u>PREFERENCIA DE TAMAÑO DE PRESA Y RESPUESTA FUNCIONAL DE <i>Chrysoperla externa</i> SOBRE <i>Diaphorina citri</i></u> .....	58

## RESUMEN

*Diaphorina citri* Kuwayama es vector de las bacterias *Candidatus Liberibacter* spp. responsables del Huanglongbing, considerada la enfermedad más devastadora de los cítricos. Esta no ha sido reportada en Uruguay, pero su presencia en países limítrofes y del vector en la zona norte del país coloca a la citricultura en una situación de alto riesgo. *Chrysoperla externa* (Hagen) es un enemigo natural que ha sido encontrado en forma frecuente y abundante en predios citrícolas con presencia de la plaga. Se destaca por su voracidad de larvas, capacidad de búsqueda, resistencia a algunos insecticidas y plasticidad ecológica. Con el propósito de valorar su potencialidad como agente de control biológico de *D. citri* se plantearon dos objetivos: 1-Evaluar el consumo y la preferencia de *C. externa* por distintos tamaños de *D. citri* y 2- Determinar la respuesta funcional de *C. externa* cuando es alimentada con ninfas grandes de *D. citri*. Los estudios se realizaron a 25 °C y 70 ± 5% HR, en placas de Petri utilizando larvas de tercer estadio de *C. externa* y distintos tamaños de *D. citri* en los ensayos de consumo y preferencia, y ninfas grandes en respuesta funcional, el tiempo de exposición fue de 60 minutos. Se realizaron ensayos “sin elección” con cuatro tratamientos de presa: huevos, ninfas chicas (estadios I y II), ninfas grandes (estadios III, IV y V) y adultos. En ensayos “con elección” se evaluaron combinaciones de a pares de todos los tamaños. La disponibilidad de presas fue de 75 individuos por tamaño. La respuesta funcional se estimó con densidades de presa de 0, 25, 50, 75, 100 y 125. En “sin elección” se encontró un efecto del tamaño de presa ( $P < 0,0001$ ). El mayor consumo correspondió a huevos, seguido de ninfas chicas y grandes que, a su vez, fueron mayores que adultos ( $P < 0,05$ ). En ensayos “con elección” se comprobó preferencia por ninfas grandes frente a huevos ( $Z = -2,80$ ,  $p = 0,005$ ) y adultos ( $Z = -2,71$ ,  $P = 0,017$ ), ninfas chicas sobre huevos ( $Z = -2,81$ ,  $P = 0,005$ ) y de adultos sobre huevos ( $Z = -2,47$ ,  $P = 0,013$ ). Estos estudios mostraron que *C. externa* se alimentó de todos los tamaños de *D. citri*, pero el consumo fue mayor con presas pequeñas y, cuando pudo optar, prefirió tamaños intermedios. La respuesta funcional de *C. externa* es de tipo II, el coeficiente de ataque  $2,54 \pm 2,11$  y el tiempo de manipulación  $0,0012 \pm 0,002$ . Estos resultados indican que es un depredador eficiente a bajas densidades de presa. Se demostró, entonces, que *C. externa* tiene buen potencial de depredación de *D. citri* y podría ser útil en control biológico aumentativo o de conservación.

**Palabras claves:** control biológico, huanglongbing, psílido asiático de los cítricos, depredador

**PREY SIZE PREFERENCE AND FUNCTIONAL RESPONSE OF *Chrysoperla externa*  
(NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) OVER *Diaphorina citri* (HEMIPTERA: PSYLLIDAE)**

**SUMMARY**

*Diaphorina citri* Kuwayama is a vector of the bacteria *Candidatus Liberibacter* spp. responsible for Huanglongbing, considered the most devastating citrus disease. It has not been reported in Uruguay, but its presence in neighboring countries and of the vector in the northern part of the country places citrus in a high risk situation. *Chrysoperla externa* (Hagen) is a natural enemy that has been found frequently and abundantly in citrus farms with the presence of the pest. It stands out for its voracity of larvae, search capacity, resistance to some insecticides and ecological plasticity. In order to assess its potential as a biological control agent for *D. citri*, two objectives were set: 1-Evaluate the consumption and preference of *C. externa* for different sizes of *D. citri* and 2- Determine the functional response of *C. externa* when fed with large nymphs of *D. citri*. The studies were carried out at 25 °C and 70 ± 5% RH, in Petri dishes using third stage larvae of *C. externa* and different sizes of *D. citri* in the consumption and preference tests, and large nymphs in functional response, time exposure was 60 minutes. "No choice" trials were conducted with 4 treatments for prey: eggs, small nymphs (N-I, and N-II instars), large nymphs (N-III, N-IV, and N-V instars), and adults. In trials "choice" all combinations of 2 prey-predator sizes were evaluated. Prey availability was 75 individuals per size. In functional response were evaluated the following prey densities: 0, 25, 50, 75, 100, 125. In "no choice" an effect of the prey size factor was found ( $P < 0.0001$ ). The highest consumption corresponded to eggs, followed by small and large nymphs which, in turn, were older than adults ( $P < 0,05$ ). In "choice" preference for large nymphs in prey eggs ( $Z = -2.80$ ,  $P = 0.005$ ) and adults ( $Z = -2,71$ ,  $P = 0,017$ ), nymphs in prey eggs ( $Z = -2,81$ ,  $P = 0.005$ ) and adults instead of eggs ( $Z = -2,47$ ,  $P = 0,013$ ). *Chrysoperla externa* fed on all sizes of *D. citri*, but the highest consumption was on small prey and, when it can choose, it preferred intermediate sizes. The functional response of *C. externa* is type II, the attack coefficient  $2.54 \pm 2.11$  and the handling time  $0.0012 \pm 0.002$ . *Chrysoperla externa* would be an efficient predator at low prey densities and with wood potential to consume *D. citri*. Useful in augmentative and conservative biological control.

**Keywords:** biological control, huanglongbing, predator, asian citrus psyllid

## 1. INTRODUCCIÓN

Los cítricos son el principal rubro exportador horti-frutícola de Uruguay, cuyo principal producto es fruta para consumo en fresco. En este rubro participan 416 empresas, ocupando una superficie de 14.587 hectáreas, de las cuales 91% se encuentra en la zona litoral norte del país, en los departamentos de Salto, Paysandú y Artigas. En la zona sur, los citrus se ubican en Montevideo, San José, Colonia y Canelones. En 2020 la producción fue de 218.672 toneladas, de las cuales 40,5% correspondió a naranjas, 35,6% a mandarinas y 23,6% a limones, como principales especies. La producción va dirigida alrededor del 44% al mercado externo, 15% a la industria y 41% al mercado interno y pérdidas (MGAP-DIEA, 2021).

Huanglongbing (HLB), Greening o enfermedad de los brotes amarillos es, en la actualidad, el problema sanitario más importante de los cítricos a nivel mundial. Los agentes causales de la misma son ( $\alpha$ )-protobacterias gram-negativas (*Candidatus Liberibacter* spp) asociadas a los tubos cribosos del floema. Se transmite por dos vectores: el psílido asiático de los cítricos *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) y la psila africana *Trioza erytreae* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae) (Bové, 2006), en los cuales las bacterias se encuentran en la hemolinfa y glándulas salivales (Jagoueix et al., 1994). Al tiempo que *D. citri* se localiza en predios citrícolas de la zona litoral-norte de Uruguay (Asplanato et al., 2011), el HLB no ha sido detectado en el país (Pérez et al., 2019), pero se encuentra en los países próximos: Argentina (Outi et al., 2014), Brasil (Coletta-Filho et al., 2004) y Paraguay (SENAVE, 2017). Esto ubica a la citricultura nacional en una situación de alto riesgo frente a la posible introducción del HLB.

En los programas de manejo de plagas en el cultivo de *Citrus* es fundamental minimizar el uso de insecticidas de forma de limitar al máximo la presencia de residuos en fruta y en el medioambiente en general. En este contexto el control biológico es una de las tácticas principales y la generación de conocimientos sobre la entomofauna benéfica asociada al psílido en las condiciones locales es básica para el desarrollo de un plan de manejo. Dentro de los depredadores, los crisópidos son una familia de importancia reportada asociada al vector en varias zonas citrícolas a nivel mundial (Cortez-Mondaca et al. 2016, Sánchez et al. 2015, Lozano y Jasso 2012). En nuestro país los crisópidos han sido los enemigos naturales más abundantes, constantes y frecuentes encontrados en predios comerciales donde se encuentra la plaga. Entre ellos se destaca *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) el cual se caracteriza por alimentarse de insectos de cuerpo blando entre ellos *D. citri* (Pacheco-Rueda

et al., 2015), exhibir plasticidad ecológica, rápida locomoción, voracidad en el consumo de larvas (Janduí et al., 2007) y tolerante a algunos insecticidas (Haramboure et al., 2013).

Con el fin de conocer la potencialidad de *C. externa* como agente de control biológico de *D. citri* se estudió la preferencia de larvas de tercer estadio de este depredador por los distintos tamaños de *D. citri* (huevos, ninfas chicas, ninfas grandes y adultos). Además, se evaluó el tipo de respuesta funcional que presentan larvas de tercer estadio de *C. externa* cuando se alimentan de ninfas grandes de *D. citri*.

### **1.1. EL PSÍLIDO ASIÁTICO DE LOS CÍTRICOS *DIAPHORINA CITRI* (KUWAYAMA)**

El psílido asiático de los cítricos (PAC), *D. citri*, descrito por primera vez en 1907 en Shinchiku-Taiwán (Kuwayama, 1908), es originario del sudeste asiático al igual que los cítricos (Halbert y Manjunath, 2004). Se distribuye principalmente en zonas tropicales y subtropicales de Asia, América y parte de África (Shimwela et al. 2016, Halbert y Núñez, 2004). Sus hospederos son alrededor de 20 especies de la familia Rutácea, entre ellos los cítricos (Aubert, 1987).

### **1.2. DESCRIPCIÓN Y ASPECTOS BIOECOLÓGICOS**

*Diaphorina citri* es un insecto pequeño (3-4 mm de longitud) de hábito diurno, en reposo es común verlo formando un ángulo de 45° en el envés de las hojas. Salta y realiza vuelos cortos cuando son perturbados, su dispersión a largas distancias se realiza por medio del viento o del ser humano. Su cuerpo es marrón moteado y se encuentra cubierto de secreciones cerosas, lo que le da una apariencia pulverulenta. La cabeza es de color castaño, presenta ojos compuestos rojos o marrones y antenas filiformes de 8 segmentos (Onagbola et al., 2008) con el ápice negro (Mead y Fasulo, 2010). Las alas son membranosas, más anchas en su extremo apical, el patrón de venación es típico de los psílididos (Asplanato et al., 2011). El primer par de alas presentan manchas marrones a lo largo de sus bordes y el segundo es transparente. El color del abdomen puede ser gris-amarronado, verde-azulado y amarillo-anaranjado (Wenninger y Hall, 2008). En machos el extremo del abdomen es en forma de punta roma y más pequeño, en cambio en hembras termina en punta fina (García et al., 2016).

Son hemimetábolos, es decir presentan metamorfosis incompleta y sus estados biológicos son huevo, ninfa y adulto. La oviposición se produce principalmente en hojas

plegadas, pecíolos, yemas axilares y en la base y el envés de hojas de los primeros centímetros de brotes tiernos (Ammar et al., 2013). Una hembra puede oviponer hasta 800 huevos a lo largo de su vida. Los huevos recién puestos son amarillo pálido y anaranjados, con dos puntos rojos (ojos de los embriones) próximo a la eclosión. Son de forma ovoide, la parte basal es amplia y el extremo distal es estrecho y curvo (Tsai y Liu 2000, García et al. 2016).

Las ninfas son amarillas, móviles y pasan por cinco instares hasta que emerge el adulto. El tamaño, el desarrollo de los botones alares y la segmentación de las antenas son las características más relevantes para diferenciar los mismos. Se alimentan del floema de los pecíolos, hojas tiernas, tallos que aún no se han lignificado, y pedúnculos de flores y frutos jóvenes (Chen, 1998). El primer estadio ninfal (N-I) es amarillo, no tiene esbozos alares y sus antenas son muy pequeñas. El segundo estadio (N-II) es amarillo-anaranjado, se empieza a observar la presencia de esbozos alares en el dorso del tórax y las antenas son blanquecinas, en algunos casos se observa una coloración negra en el extremo de las mismas. Tanto N-I como N-II presentan un comportamiento agregado y se encuentran debajo de hojas tiernas. En el tercer estadio (N-III) los botones alares se extienden desde abajo del nivel de los ojos hasta el segundo segmento abdominal. Se empiezan a observar la segmentación de las antenas y el ápice tiende a ser negro, su movilidad es superior a los estadios anteriores. Se sitúan en el envés de hojas jóvenes en grupos, en la base foliar o en ramas. En ninfas de cuarto estadio (N-IV) los botones alares se extienden desde los ojos o un tercio de ellos hasta el tercer segmento abdominal y las antenas son negras hasta la parte media distal. Se encuentran en grupos en brotes tiernos y en ramas más desarrolladas, son muy móviles. Las ninfas del quinto estadio (N-V) tienden en general a ser sedentarias, los esbozos alares están desarrollados y se extienden desde el margen frontal de los ojos hasta el cuarto segmento abdominal. Las antenas son negras excepto el escapo. Se localizan en grupos en ramas hasta la emergencia del adulto (García et al. 2016, Tsai y Liu 2000) (Cuadro 1).

### **1.3. DAÑOS**

Los daños directos de *D. citri* son ocasionados por su alimentación a través de su aparato bucal pico suctor. Este posee un estilete con dos canales: canal alimenticio por donde succiona savia y el canal salival a través del cual inyecta toxinas (Garzo et al., 2012). Produce enrollamiento de hojas y brotes, caída de flores, defoliación y muerte de la yema apical.

Adquieren mayor relevancia cuando hay altas poblaciones del psílido. Las plantas de vivero o recién implantadas son las más susceptibles (Ammar et al., 2013). Sobre la mielecilla se desarrollan hongos saprófitos que causan fumagina y con ello pérdidas de áreas fotosintéticamente activa, manchas en hojas y frutos constituyendo uno de los daños indirectos asociados a estos insectos (Wang et al., 2001).

**Cuadro 1:** Tamaños y duración en días de los distintos estados y estadios de *D. citri* en condiciones controladas (25 °C, 75 - 80%HR y 13:11 luz/oscuridad) (Tomado de Tsai y Liu 2000).

Estadio	Huevo	Ninfa I	Ninfa II	Ninfa III	Ninfa IV	Ninfa V	Adulto Hembra	Adulto Macho
Tamaño (largo x ancho en milímetros)	0,31 x 0,14	0,30 x 0,17	0,45 x 0,25	0,74 x 0,43	1,01 x 0,70	1,60 x 1,02	3,3 x 1,0	2,7 x 0,8
Duración en días	4,1 - 4,3	2,0 - 2,25	1,58 -1,65	1,58 - 1,86	2,32 - 2,45	4,65 - 5,21	39,65 - 43,69	-

### 1.3.1. Huanglongbing (HLB)

El daño indirecto más importante de *D. citri* es producido por ninfas IV y V y adultos por ser vectores de las ( $\alpha$ )-proteobacterias gram-negativas restringidas al floema: *Candidatus Liberibacter asiaticus*, *Ca. L. americanus* y *Ca. L. caribbeanus* responsables del Huanglongbing (da Graça et al. 2016, Keremane et al. 2015, Bové 2006). Huanglongbing, Greening o enfermedad de los brotes amarillos es considerada actualmente la enfermedad más devastadora de los cítricos a nivel mundial, por los perjuicios cualitativos y cuantitativos en el rendimiento y muertes tempranas de árboles que provoca, que se traduce en graves pérdidas económicas (Álvarez et al. 2016, Gottwald et al. 2007, Bové 2006). Los síntomas asociados a estas bacterias son brotes, ramas amarillas o muerte de las mismas en parte del árbol y baja carga de fruta. En hojas se observa moteado con patrones asimétricos con relación a la nervadura principal, acumulación de almidón y reducido número de cloroplastos en zonas de manchas. Éstos pueden confundirse con deficiencias de zinc (Batool et al., 2007). Los frutos son asimétricos, de tamaño reducido, con semillas abortadas y en general más ácidos, presentan rotura de color invertida (empieza a cambiar de color desde el área del tallo del fruto

hacia el extremo, mientras que en una fruta sana ocurre lo opuesto) y color desigual (da Graça et al., 2016), además es frecuente la caída prematura de los mismos (Bové, 2006). A nivel radicular se observa escaso desarrollo (Batool et al., 2007). En general los síntomas visuales son variables y suelen demorar meses e incluso años en manifestarse, lo que dificulta su detección temprana y favorece su rápida diseminación (Gottwald et al., 2020).

El HLB no tiene cura y su manejo se basa en la prevención y reducción de su dispersión mediante la implantación de plantas sanas producidas en invernaderos bajo cubierta, inspección y erradicación de plantas enfermas y control del insecto que la vectoriza (Kimati et al., 2005).

En el continente americano el HLB fue detectado por primera vez en el año 2004 en San Pablo (Brasil) (Texeira et al., 2005) y se expandió rápidamente a otras zonas cítricas del continente. En Uruguay no se ha detectado aún (Pérez, et al., 2019) pero, por estar presente en Brasil, Argentina y Paraguay (SENAVE 2017, Outi et al. 2014, Coletta-Filho et al. 2004), la citricultura uruguaya se encuentra en una situación de alto riesgo. Principalmente por las características de la producción nacional, que tiene como destino primordial el consumo de fruta en fresco, con lo cual debe ser mínima la presencia de residuos de insecticidas químicos que podrían generarse del control de *D. citri*.

#### **1.4. MANEJO DE *D. citri***

Características propias de la plaga, como ciclos biológicos cortos, alta prolificidad, tolerancia a temperaturas extremas y su asociación a tejidos en crecimiento, la convierten en un flagelo de difícil control (Grafton-Cardwell et al., 2013). Para reducir sus poblaciones es importante integrar diferentes tácticas de manejo y minimizar el uso de insecticidas químicos, de forma de limitar la presencia de residuos en la fruta y los efectos en el ambiente y en la salud de los trabajadores.

##### **1.4.1. Control químico**

A pesar de los inconvenientes antes mencionados, a nivel mundial su manejo se basa casi exclusivamente en aplicaciones periódicas de insecticidas químicos de amplio espectro, como piretroides, organofosforados, neonicotinoides, carbamatos y reguladores de crecimiento (Naeem et al. 2016, Rogers et al. 2014). Aplicaciones foliares de los tres primeros grupos son

las más eficaces para el control de adultos, mientras que aceites y reguladores de crecimiento lo son para huevos y estadios inmaduros (Boina y Bloomquist 2015, Tiwari et al. 2012).

La eficacia de este tipo de manejo es limitada debido a la aparición de resistencia a ciertos productos comúnmente usados en cítricos como Imidacloprid (Tian et al., 2018) y Thiamethoxam (Naeem et al., 2019). Por otra parte, los insecticidas químicos pueden ejercer un efecto no deseado sobre enemigos naturales (Rugno et al. 2019, Michaud 2004) e insectos benéficos no objetivos como es el caso de *Apis mellifera* (Linnaeus) (Chen et al., 2017). Tales consecuencias se deben en primer lugar a la toxicidad aguda (efecto letal) y en segundo lugar a efectos sub-letales, que provocan cambios fisiológicos y comportamentales sobre la capacidad de apareamiento, la proporción de sexos, la fertilidad, la fecundidad, la longevidad de adultos y la capacidad de alimentación (He et al. 2012, Desneux et al. 2007). Los enemigos naturales cumplen un rol fundamental en la regulación de las poblaciones del vector en el campo, por lo que la eliminación de los mismos mediante el uso intensivo de insecticidas químicos puede favorecer la diseminación de la enfermedad por parte de *D. citri* (Qureshi y Stansly, 2009) y el resurgimiento de plagas secundarias (Miranda et al., 2018).

Amorós (2017) determinó que para poblaciones del psílido de Uruguay los aceites minerales y vegetales resultan adecuados sin embargo no son suficientes. Son productos de bajo impacto para depredadores y parasitoides, de baja residualidad, no dejan residuos en las frutas y no poseen riesgo de generación de resistencia, por lo cual constituyen herramientas apropiadas para un posible manejo integrado de *D. citri* en nuestras condiciones. Además, abamectina, spirotetramat y aceites de neem mostraron ser efectivos contra el PAC y son alternativas disponibles para rotaciones de principios activos.

#### **1.4.2. Control biológico**

Los factores bióticos de mortalidad de *D. citri* como los enemigos naturales juegan un rol importante en la supresión de este vector (Qureshi y Stansly, 2009) y constituyen una alternativa viable, ecológica y autosustentable al control químico. Los complejos de especies de control biológico varían según la región geográfica e incluyen parasitoides (Hymenoptera) (Vankosky y Hoddle, 2016), depredadores generalistas (Michaud, 2004) y hongos entomopatógenos (Grafton-Cardwell et al., 2013).

Entre los parasitoides, *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam y Agarwal) (Hymenoptera: Encyrtidae) y *Tamarixia radiata* Waterston (Hymenoptera: Eulophidae) son los más importantes. Ambas especies son parasitoides sinovigénicas, es decir, emergen con pocos huevos maduros y a partir de recursos nutricionales acumulados en la fase larval y proteínas y lípidos obtenidos de su alimentación de la hemolinfa y tejidos del huésped (*host feeding*) se maduran los huevos restantes (Jervis y Kidd, 1986). *Diaphorencyrtus aligarhensis* es un endoparasitoide koinobionte, se alimenta en los cuatro primeros estadios ninfales del PAC y ovipone en ninfas II-VI (Skelley y Hoy, 2004). Por su parte, *T. radiata* es un ectoparasitoide koinobionte que se alimenta de ninfas II y III y ovipone en ninfas III-V (Chen y Stansly, 2014). Este último parasitoide es considerado uno de los enemigos naturales más eficientes y el más utilizado como control biológico clásico a nivel mundial (van Lenteren et al., 2020).

Como depredadores, los crisópidos están asociados al psílido, citándose *Chrysoperla comanche* (Banks), *C. rufilabris* (Burmeister), *C. carnea* (Stephens), *Ceraeochrysa valida* (Banks), *C. claveri* (Navás) (Cortez-Mondaca et al., 2016), *C. cincta* (Schneider), *C. cubana* (Hagen), *C. everes* (Banks) (Lozano y Jasso, 2012), *C. dolichosvela* (Freitas y Penny), *C. tucumana* (Navás), *Leucochrysa camposi* (Navás), *Chrysopodes spinella* (Adams y Penny) (Cáceres et al., 2010) y *C. externa* (Pacheco-Rueda et al., 2015).

También actúan como agentes reguladores varias especies de coccinélidos (Khan et al. 2016, Rodríguez-Palomera et al. 2012, Qureshi y Stansly 2009), sírfidos (Kistner et al. 2016, Michaud 2002), chinches depredadoras (Michaud, 2002), arañas (Araneae) (Hall, 2008) y ácaros (Lu et al. 2019, Fang et al. 2018, Fang et al. 2013, Juan-Blasco et al. 2012).

De estas especies de depredadores sólo algunas se encuentran disponibles comercialmente o son criadas masivamente para el control de esta plaga. En Estados Unidos se comercializa con este fin el crisópido *C. rufilabris* (Gebiola y Stouthamer, 2019) y los coccinélidos *A. bipunctata* (Khan et al., 2016) e *Hippodamia convergens* (Guérin-Méneville) (Qureshi y Stansly, 2011). En Cuba se liberan los coccinélidos *H. convergens*, *Chilocorus cacti* (Linnaeus) y *Cycloneda sanguinea* limbifer (Casey) (Márquez et al., 2020).

En Uruguay se ha observado la presencia de los depredadores crisópidos *C. externa*, *C. cincta*, *Ceraeochrysa* sp. y *Leucochrysa* sp. Los dos primeros son los más frecuentemente encontrados a lo largo del año y, en general, de forma abundante (Pechi et al., 2016). También se han reportado los coccinélidos *Harmonia axyridis* (Pallas), *C. sanguinea*, *Curinus coeruleus*

(Mulsant), *Olla v-nigrum* (Mulsant), *Scymnus loewii* (Mulsant), *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant), *Chilocorus bipustulatus* (Linnaeus), *Calloeneis signata* (Korschefsky), *Coleomegilla quadrifasciata* (Schönherr) y *Eriopsis connexa* (Germar).

#### **1.4.2.1. *Chrysoperla externa***

El uso de crisópidos en control biológico ha sido realizado principalmente mediante liberaciones inundativas (Pappas et al. 2011, Senior y McEwen 2001) y técnicas de conservación (Weihrauch 2008, Hagen et al. 1999). *Chrysoperla* es considerado uno de los géneros más importantes de este grupo (Canard y Principi, 1984), dentro del cual *C. externa* presenta un gran potencial de depredación de insectos plagas de cuerpos blandos en fases inmaduras y adultas, alta tasa reproductiva (Albuquerque et al., 1994), rápida locomoción en estado larval (Janduí et al., 2007) y tolerancia a algunos insecticidas (Haramboure et al. 2013, Rimoldi et al. 2012,). Es una especie neotropical de amplia distribución, presente desde el sur de Estados Unidos hasta América del Sur (Adams y Penny, 1985) y se encuentra en diferentes hábitats (Olazo y Reguilón, 2008). Estas características la hacen promisoría como agente de control biológico en programas aumentativos (Gamboa et al., 2016). En estado larval es depredador mientras que el adulto se alimenta de polen, néctar y mielecilla (Salamanca et al., 2010). El adulto tiene hábito crepuscular, por lo que es común verlo volar sobre cultivos en el atardecer y la noche (Monje et al., 2012).

Los adultos son de color verde claro, en vista dorsal desde la base de cabeza hasta el ápice del abdomen se observa una franja amarilla longitudinal. Las antenas son amarillas sin marcas, tienen aproximadamente 81 flagelómeros, los artejos basales se caracterizan por ser más anchos que largos y la longitud de las antenas es más corta que la expansión alar. La frente es amarilla-crema, el aparato bucal es masticador, con genas y mandíbulas con manchas rojizas. El vértex es de color amarillo con estrías. El tórax es verde, en el pronoto con bandas laterales rojizas, en cambio el meso y metanoto no poseen manchas. Las patas son amarillas. Presenta dos pares de alas membranosas largas, delgadas y traslúcidas. El abdomen es verde-amarillento y no presenta marcas (Adams y Penny, 1985) (Figura 1).



**Figura 1:** Adulto de *Chrysoperla externa*

Presentan un desarrollo de tipo holometábolo. Los huevos son de forma oval, la superficie es lisa y en el extremo distal presenta una estructura microcapilar (opérculo). Además, se caracterizan por presentar un pedicelo hialino de 4-6 mm. Su color varía desde verde a crema previo a la eclosión y son colocados individualmente. Las larvas son campodeiformes, pasan por tres estadios, los cuales no muestran diferencias notorias entre sí. La cabeza es prognata y aplanada, posee un aparato bucal succionador en forma de pinzas, consecuencia de la fusión de las mandíbulas con las maxilas. En el interior de éstas hay un canal membranoso a través del cual inyecta enzimas digestivas a las presas y luego succiona el fluido de las mismas. Posee antenas filiformes multisegmentadas y cortas por encima de las mandíbulas, no presentan ocelos al igual que los adultos. En cada segmento del tórax y en los del abdomen a excepción de los dos últimos posee un par de tubérculos laterales con pelos. Las patas son largas, cursoras y en el extremo tienen un empodio. La pupa es verde, posee los apéndices libres (exarata) y se encuentra dentro de un cocón o capullo blanco, esférico de textura apergaminada, compuesto por finos hilos de una sustancia mucoproteica secretada por tubos de Malpighi (Núñez, 1989).

#### **1.4.2.2. Preferencia de los depredadores por las presas**

El carácter generalista de muchos depredadores ha generado controversia acerca del impacto sobre otras especies no blanco por su uso en prácticas de control biológico. Sin embargo, también se pueden encontrar algunas ventajas en dicha característica, como la

habilidad de colonización, la persistencia temporal y los hábitos alimenticios oportunistas que los hacen importantes agentes de control biológico. Más allá de estos beneficios, la realización de investigaciones previas se hace indispensable antes de su introducción en forma masiva dentro de un ecosistema, ya que existe un riesgo ambiental considerable (Ehler, 1990). La evaluación de la preferencia y el rango de hospederos presa contribuyen a evitar tales riesgos al máximo posible (van Driesche y Bellows, 1996).

La preferencia por las presas se encuentra asociada a distintos factores, como el valor nutricional de éstas, el cual ejerce un efecto positivo en su performance, producción de huevos (Pitwak et al. 2016, Salamanca et al. 2010), longevidad de adultos (Pitwak et al., 2016) y tiempo de desarrollo y capacidad de completar el ciclo (Giffoni et al., 2007). También influye el tamaño de la presa (Brose, 2010) y su comportamiento anti-depredador (Magalhaes et al., 2005), y la facilidad de ataque del depredador (Eubanks y Denno, 2000). El tamaño de presa tiene un efecto directo en el tiempo de manipulación y en la tasa de encuentros (Brose, 2010), mientras que la facilidad de ataque se encuentra asociada a la capacidad del depredador de detectar presas y alimentarse de ellas, y las defensas exhibidas por las mismas (Chailleux et al. 2013, Venzon et al. 2002, Guershon y Gerling 1999).

Es por ello que la determinación de la preferencia alimenticia en un contexto depredador-presa se enfrenta con dificultades especiales dado que, en general, las presas no se presentan al depredador como iguales alternativos posibles. Preferencia no puede ser definida simplemente en términos de la relación de las proporciones de alimentos consumidos por el depredador comparado con la proporción de alimentos en el ambiente (Ivlev 1961). Claramente, tales medidas están equivocadas en los casos donde el depredador es capaz de capturar un gran porcentaje a baja densidad de alimentos y solo un bajo porcentaje a alta densidad de éstos. En otras palabras, la proporción de las diferentes presas capturadas refleja no solo sus densidades relativas, sino también su facilidad de captura, gobernada por factores como capacidad de ataque del depredador, mecanismo de escape de la presa, cobertura protectora, existencia de refugios, etc.

Un método experimental que toma en cuenta estos factores es definir la preferencia comparando las capturas en un ambiente de múltiples presas con las capturas que se realizan en varios ambientes de presas simples (Rapport y Turner, 1970). De este modo, la comparación del número de presas consumidas cuando están ofrecidas separadas con el número cuando

las presas están expuestas simultáneamente (según diseño experimental de Underwood y Clarke, 2005) contribuye a definir si existe preferencia por algún tipo de alimento. Así, de acuerdo a estos autores, preferencia sería un comportamiento que acarrea como resultado un consumo no predicho a partir del comportamiento cuando no hay otra opción disponible. En estos experimentos, ofrecer las presas en forma separada es una forma de 'control' por la posibilidad que algunos tipos de presas sean consumidas a tasas diferentes aun si no existe preferencia por los depredadores (Taplin, 2007).

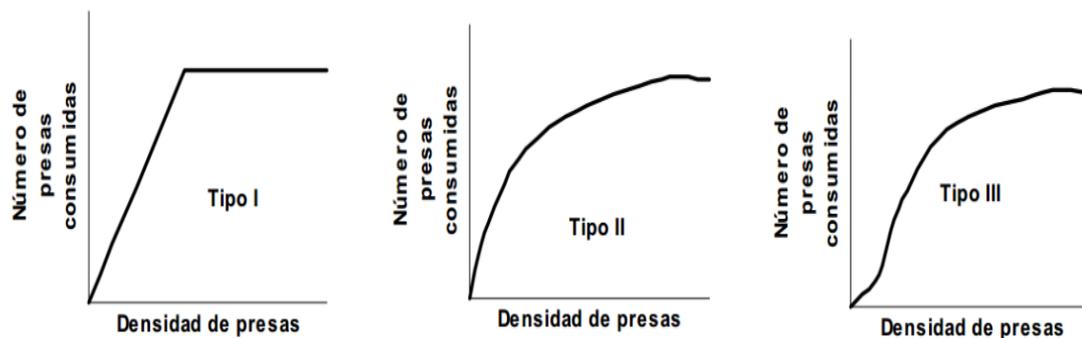
Por estar incluido en la categoría de depredadores generalistas, *C. externa* se alimenta de una amplia diversidad de especies, pero presentan distintos grados de especificidad o preferencia por algunas (Albuquerque et al., 2012). Ante la posibilidad de recurrir a esta especie como agente de control biológico de *D. citri*, resulta de interés conocer su preferencia por los distintos estados y tamaños de la misma.

#### **1.4.2.3. Respuesta funcional**

La disponibilidad de alimento, competencia, dispersión, factores físicos e interacciones entre el depredador (o parasitoide) y la presa influyen sobre la eficacia del primero. El número de presas, en un tiempo determinado, que un depredador individual puede consumir, o el número de hospederos que puede atacar un parasitoide, está en función de la densidad de presas o hospederos y se conoce como respuesta funcional (Juliano 1993, Holling 1966, Holling 1965). Es de utilidad para describir el parasitismo o depredación de un determinado enemigo natural debido a que afecta el desarrollo, reproducción y sobrevivencia del mismo (García et al., 2007). Además, es una herramienta importante de evaluación de la potencialidad de un agente de control biológico, porque relaciona el consumo per cápita de un depredador con la densidad de alimento disponible (Jumbo et al. 2019, Milonas et al. 2011) y permite estimar la densidad asintótica de presas, por encima de la cual aumenta la probabilidad de escape de las presas (Begon et al., 1996). Asimismo, los parámetros de la respuesta funcional son de utilidad para comparar enemigos naturales, distintos estadios y condiciones ambientales (Thompson, 1975). En términos evolutivos, la respuesta funcional puede ser útil para comparar diferentes especies o poblaciones de presas y encontrar evidencias de coevolución diferencial entre presa y depredador (Juliano y Williams 1987, Houck y Strauss 1985, Livdhal 1979).

Los factores que influyen en el tipo de respuesta funcional son la especie de presa, su tamaño, apariencia y tipo de distribución, disponibilidad de presas alternativas, preferencia del depredador, estadio y el nivel de hambre del mismo (Holling, 1965). La variación de la tasa de consumo fue clasificada por Holling en 1959 en tres tipos (I, II y III) (Figura 2). La respuesta funcional del tipo I se presenta cuando el número de presas consumidas por unidad de tiempo aumenta en forma lineal con relación al número de presas disponibles hasta un máximo a partir del cual permanece constante ( $a'$  o coeficiente de ataque es constante). En este tipo de comportamiento exhibe una tasa de depredación independiente de la densidad de presa y es habitual en animales filtradores (Holling, 1959) o en parasitoides generalistas (por ejemplo: *Trichogramma* spp) (Cabello y Varga, 1988). Los enemigos naturales con este tipo de respuesta son idóneos para su uso en lucha biológica por aumento mediante sueltas inundativas o masivas (para conseguir un efecto de choque a corto plazo) (Cabello et al., 2012).

En la respuesta tipo II, el consumo de presas se incrementa con la densidad de las presas ( $a'$  es también constante) pero la velocidad de consumo se va ralentizando hasta alcanzar un valor asintótico en la cual se expresa la máxima tasa de ataque. Ello ocurre por efecto del incremento del tiempo de manipulación ( $T_h$ ) de la presa por el depredador que se va incrementado con la densidad.  $T_h$  se define como el tiempo dedicado a perseguir, dominar, consumir y digerir las presas, y a prepararse para la siguiente búsqueda. El incremento de  $T_h$  reduce el tiempo de búsqueda, lo que resulta en una relación denso-dependiente inversa, lo que implica que las presas a altas densidades poblacionales tendrán una menor probabilidad de ser atacadas que cuando están a densidades bajas. Este tipo de relación es común en insectos depredadores y parasitoides especialistas (Fernández-Arhex y Corley 2004, Mitchell y Brown 1990, Holling, 1959).



**Figura 2:** Tipos de respuesta funcional según Holling (1959).

Finalmente, la respuesta tipo III se presenta cuando existe un coeficiente de ataque ( $a'$ ) que no es constante; el número de presas consumidas por unidad de tiempo se acelera con el aumento de la densidad de presas, hasta que el tiempo de manipulación comienza a limitar su consumo; su representación gráfica tiene una curva sigmoidea o en "S" (Juliano, 1993). Este tipo de respuesta produce, a bajas densidades de presa, una mortalidad denso-dependiente directa. Es por esta razón que solo la respuesta de tipo III es potencialmente estabilizadora de la dinámica presa–depredador y es importante destacar que esto sucede a bajas densidades de la presa (Hassell et al., 1977). Una vez superado el punto de inflexión, la curva se parece a la descrita para la respuesta de tipo II.

Según Holling (1959), el tipo III es característico de vertebrados y algunos invertebrados generalistas que, de acuerdo a la abundancia de presas, se alimentan de diversas especies o cambian su eficiencia de captura conforme al costo de búsqueda del alimento (Mitchell y Brown, 1990, Holling 1959). La capacidad de detectar presas a bajas densidades es uno de los factores importantes al momento de seleccionar un agente de control biológico (Van Alebeek et al. 1996, Van Lenteren, 1986) la cual está asociada al comportamiento del tipo III. Además, los enemigos naturales que presentan el tipo III de respuesta funcional son los idóneos para su utilización en lucha biológica por aumento inoculativo (baja tasa de liberación y efecto de colonización a mediano plazo) (Téllez et al., 2020).

## **1.5. OBJETIVOS**

### **1.5.1. Objetivo general**

Evaluar la potencialidad de *Chrysoperla externa* como agente de control biológico de *Diaphorina citri*.

### **1.5.2. Objetivos específicos**

1. Evaluar la preferencia de *C. externa* por presas de distinto estado y estadio de desarrollo de *D. citri*.
2. Determinar el tipo y los parámetros de la respuesta funcional de larvas de tercer estadio de *C. externa* cuando son alimentadas con ninfas grandes (estadios III, IV y V) de *D. citri*.

## **1.6. HIPÓTESIS**

*Chrysoperla externa* es potencialmente efectiva como agente de control biológico sobre poblaciones locales de *D. citri*.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1. LUGAR DE REALIZACIÓN Y MATERIAL BIOLÓGICO UTILIZADO**

Los estudios se llevaron a cabo en los laboratorios de la Unidad de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República (Montevideo, Uruguay) y de la Estación Experimental Salto Grande del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) (Salto, Uruguay), en el período comprendido entre diciembre de 2017 y diciembre 2018.

Los individuos de *D. citri* utilizados como presas provinieron de una colonia instalada en INIA Salto Grande (Figuras 3 y 4), al tiempo que los depredadores fueron extraídos de una colonia multiplicada en la Facultad de Agronomía (Figura 5).



**Figura 3:** Huevos (izquierda) y ninfa de primer estadio de *D. citri* (derecha)



**Figura 4:** Ninfa de quinto estadio (izquierda) y adulto de *D. citri* (derecha) (Foto de adulto de V. Galván)



**Figura 5:** Larva de tercer estadio de *C. externa*

Los adultos de *C. externa* fueron alimentados con una dieta artificial similar a la utilizada en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico (CNRCB) de Tecomán (México) (Palomares-Pérez et al., 2017) y las larvas consumieron huevos de la polilla mediterránea de la harina *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) provenientes de una cría en marcha en la Facultad de Agronomía. Las colonias de presas y depredadores se originaron en colectas realizadas en montes cítricos de Salto y se mantuvieron en condiciones controladas de  $25 \pm 2$  °C de temperatura y  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa hasta la realización de los estudios.

## **2.2. CONDICIONES GENERALES DE LOS EXPERIMENTOS**

Las unidades experimentales, utilizadas como arenas, consistieron en placas de Petri de 5,5 cm de diámetro en las cuales se colocaron cuatro discos de papel toalla humedecidos y un disco de 'limón cravo' (*Citrus limonia*) libre de aplicaciones de insecticidas. Las placas de Petri fueron cubiertas con film perforado (orificios realizados con aguja histológica) para evitar el escape de los insectos y la condensación de humedad (Figura 6). Los ensayos se realizaron en una cámara climatizada a  $25 \pm 2$  °C de temperatura,  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa y 16:8 hs (Luz-Oscuridad) de fotoperíodo. El tiempo de exposición de las presas al depredador fue de una hora, siguiendo a Collins *et al.* (1981) y lo observado en nuestros propios ensayos preliminares evaluando la voracidad de las larvas y la disponibilidad de presas. Las larvas del depredador tuvieron un ayuno de 24 horas previo a los ensayos para estandarizar el nivel de inanición, siguiendo las experiencias de Costa *et al.* (2020) y Maselou *et al.* (2015). Las observaciones se realizaron bajo microscopio estereoscópico x 40 (Olympus modelo SZ51).



**Figura 6:** Unidad experimental: placa de Petri de 5,5 cm de diámetro con cuatros discos de papel toalla humedecidos y un disco de 'limón cravo' (*Citrus limonia*)

### 2.3. ENSAYOS “SIN ELECCIÓN” DE PRESAS

Para conocer si *C. externa* se alimenta de los distintos tamaños de *D. citri* y su capacidad de depredación sobre los mismos se realizaron ensayos “sin elección” (*no-choice*), técnica que consiste en exponer al depredador a un solo tipo de presa y contabilizar el número de individuos consumidos durante un período de tiempo. Como presas se utilizaron todos los estados de desarrollo de *D. citri*, agrupados según tamaño en el caso de las ninfas, lo que llevó a los siguientes tipos de presas: huevos, ninfas pequeñas (estadios I y II), ninfas grandes (estadios III, IV y V) y adultos. Se evaluó el tercer estadio larval de *C. externa* por ser el más voraz (alrededor del 70-80% del consumo total de presas durante el desarrollo larval) (Albuquerque et al. 2012, Cardoso y Lazzari 2003). En cada unidad experimental se expusieron 75 individuos de la presa según tipo a la acción de una larva del depredador en el estadio ya indicado. Se realizaron 10 repeticiones por tipo de presa.

Debido a que las diferentes opciones y sus repeticiones no pudieron realizarse en forma simultánea, lo que las convirtió en pseudo-repeticiones (Wajnberg y Haccou 2008, Hulbert 1984), el análisis de los resultados se realizó mediante Modelos Lineales Generalizados (MLGZ) (Agrestis 2015, Turlings et al. 2004) que permiten obviar dicho problema. Los modelos se ajustaron por estimación de máxima verosimilitud con el procedimiento de GenLin, con errores según distribución de Poisson y función de enlace logarítmico. Los valores medios fueron comparados mediante pares, usando el test de Wald, a  $P = 0,05$ .

## 2.4. ENSAYOS “CON ELECCIÓN” DE PRESAS

De modo de determinar la preferencia, según el Índice de Manly's (Manly, 1972), del tercer estadio de *C. externa* por los distintos tipos de presa de *D. citri*, se realizó un ensayo “con elección” (*choice*) de presas. Esta técnica consiste en exponer al depredador a más de un tipo de presa en forma simultánea y registrar el número de individuos consumidos de cada uno durante un período de tiempo. Se evaluaron las siguientes combinaciones de tipos de presas tomadas de a dos: huevos y ninfas pequeñas, huevos y ninfas grandes, huevos y adultos, ninfas pequeñas y ninfas grandes, ninfas pequeñas y adultos, y ninfas grandes y adultos. En cada unidad experimental se colocaron 75 individuos de cada tipo de presas, según la combinación a evaluar, junto a un individuo del depredador. Al culminar el período de exposición se contabilizó el número de individuos depredados de cada tipo y a partir de ello se calculó el índice de preferencia antes mencionado.

Los valores correspondientes a las presas consumidas en cada ensayo fueron expresados mediante el índice de preferencia  $Beta_2$  de Manly's (Manly, 1972):

$$Beta_2 = \ln(R/r) / (\ln(B/b) + \ln(R/r))$$

siendo  $R$  el número ofertado de la presa 1 y  $r$  el número no depredado de la presa 1 y  $B$  el número ofertado de la presa 2 y  $b$  el número no depredado de la presa 2. A su vez, en cada grupo de ensayos, los índices calculados fueron comparados mediante el test de Wilcoxon. En ambos casos se utilizó el software estadístico IBM SPSS, versión 23.0 (IBM, 2014). Al igual que en el estudio “sin elección” de presas, las repeticiones no se realizaron simultáneamente, siendo en realidad pseudo-repeticiones.

## 2.5. ENSAYOS PARA EL CÁLCULO DE LA RESPUESTA FUNCIONAL

El estudio de la respuesta funcional se realizó utilizando ninfas grandes (N-III, IV y V), tipo de presa preferida por este crisópido en los estudios antes mencionados, y sin reposición de presas durante el ensayo. El número de presas utilizadas fueron: 0, 25, 50, 75, 100 y 125. Los valores máximos y mínimos fueron establecidos en base a ensayos preliminares de consumo de presas por parte de este depredador.

### 2.5.1. Cálculo de la respuesta funcional

A partir de los datos del número de presas consumidas, se efectuaron dos tipos de análisis estadísticos para el cálculo de la respuesta funcional. En primer lugar, con todos los datos de presas se realizó una regresión logística entre la proporción de presas consumidas y el número de presas ofrecidas (conocido como densidad de presas), según la función polinómica utilizada por Juliano (1993). Para ello, se aplicó la ecuación:

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{EXP(P_0 + P_1N_0 + P_2N_0^2 + P_3N_0^3)}{1 + EXP(P_0 + P_1N_0 + P_2N_0^2 + P_3N_0^3)}$$

donde  $N_e$  es el número de presas consumidas,  $N_0$  es el valor inicial de presas ofrecidas y  $P_0$ ,  $P_1$ ,  $P_2$  y  $P_3$  son los coeficientes de corte, lineal, cuadrático y cúbico, estimados mediante regresión logística. Se utilizó para ello el procedimiento de regresión logística y estimación de máxima verosimilitud mediante el software estadístico Statgraphic Centurion XVI versión 16.1.18 (Statgraphics, 2010). Cuando el coeficiente  $P_1$  fue significativamente igual a cero se consideró una respuesta funcional tipo I (se consideró valor distinto de cero cuando dicho valor no estaba incluido en su intervalo de confianza); un valor de  $P_1$  significativamente negativo indicó una respuesta funcional tipo II y un valor de  $P_1$  significativamente positivo indicó una respuesta funcional tipo III.

En segundo lugar, con los valores medios del número de presas depredadas a cada densidad de presas ofertadas (expresados en días), se ajustaron los datos a los tres tipos de respuesta funcional, utilizando las ecuaciones dadas por Hassell (1978) y Cabello *et al.* (2007), como se detalla a continuación:

- a. Respuesta funcional tipo I (Hassell, 1978):

$$N_a = N[1 - EXP(-a'TP)]$$

donde  $N_a$  representa el número de presas atacadas,  $N$  es el número de presas ofrecidas,  $a'$  es el coeficiente de ataque ( $\text{días}^{-1}$ ),  $T$  es el tiempo de exposición de la presa al depredador (en días) y  $P$  es el número de depredadores presentes. Se consideró  $P = 1$  (depredador) y  $T = 1$  (día).

b. Respuesta funcional tipo II (Hassell, 1978):

$$N_a = N \left\{ 1 - EXP \left[ a'P \left( T - \frac{T_h N_a}{P} \right) \right] \right\}$$

donde  $T_h$  es el tiempo de manipulación o tiempo invertido en la captura, manipulación e ingesta de la presa (en días) y el resto igual que en la ecuación anterior. Igualmente, se consideró  $P = 1$  (depredador) y  $T = 1$  (día).

c. Respuesta funcional tipo III (Cabello *et al.*, 2007):

$$N_a = N \left\{ 1 - EXP \left[ - \frac{\alpha NP}{(1 + T_h(EXP(-\alpha) - 1)N) \left( T - \frac{T_h N_a}{P} \right)} \right] \right\}$$

donde  $\alpha$  mide el potencial de depredación (valor comprendido entre 0 y 1) y el resto igual que anteriormente. También se consideró  $P = 1$  (depredador) y  $T = 1$  (día).

Los ajustes a las ecuaciones anteriores se realizaron mediante regresión no lineal usando el software estadístico Tablecurve 2D, versión 5.0 (Jandel Scientific, 1994). Para elegir el mejor tipo de ajuste se utilizó el índice de Akaike corregido ( $AIC_c$ ), que es un estadístico más preciso para la comparación entre modelos que el coeficiente de regresión ( $R^2$ ) (Motulsky y Christopoulos, 2003). Sin embargo, dicho coeficiente también se calculó para establecer la bondad de los ajustes de regresión no lineal, en cada tipo de respuesta funcional; dichos valores no son comparables entre tipos de respuesta funcional al presentar diferentes grados de libertad. Lo que se obvia con la utilización del  $AIC_c$ .

### **2.5.2. Determinación del tiempo de búsqueda y el tiempo de manipulación**

Todas las repeticiones del ensayo de respuesta funcional fueron filmadas con una cámara de video (Panasonic HC-V250) (Figura 7). Posteriormente, en una computadora se observó el video, se registró el tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) (tiempo desde que deja una presa y encuentra la siguiente) y el tiempo de manipulación ( $T_h$ ) (captura, manipulación e ingesta de cada presa) de cada repetición y se asoció al número acumulado de presas consumidas en todos los tratamientos y repeticiones.



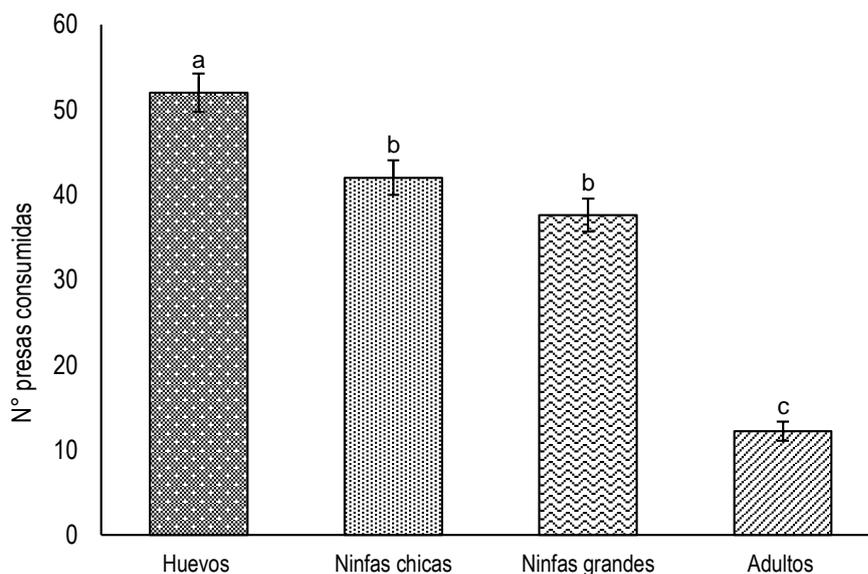
**Figura 7:** Filmación de los ensayos de respuesta funcional

El diseño experimental utilizado fue univariante factorial, considerando dos factores: densidad de presas y número acumulado de presas consumidas, así como su interacción. El número de repeticiones por factor fue variable porque los depredadores no consumieron el mismo número de presas que, como no se realizaron simultáneamente, se consideraron pseudo-repeticiones. Por ello, los datos observados de los tiempos de búsqueda ( $T_s$ ) y tiempos de manipulación ( $T_h$ ) fueron analizados estadísticamente mediante MLGZ. El procedimiento operativo y el software estadístico utilizado es el anteriormente indicado, con la salvedad que se utilizó una distribución del error normal y la función de enlace fue la identidad (esto último indica que no se transformaron los datos).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. ENSAYO “SIN ELECCIÓN” DE PRESAS

Las larvas de tercer estadio de *C. externa* se alimentaron de todos los estados y estadios de *D. citri* ofrecidos. Sin embargo, existió un efecto del tipo de presa (huevos, ninfas chicas, ninfas grandes y adultos) sobre el número de presas consumidas (Prueba ómnibus, que comparó el modelo ajustado con el modelo de sólo intersección, originó una Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 284,590, g.l. = 3,  $P < 0,0001$ ). El mayor número de presas consumidas correspondió a huevos ( $52,00 \pm 2,28$ ), seguido por el consumo de ninfas chicas ( $42,00 \pm 2,05$ ) y grandes ( $37,60 \pm 1,94$ ) que no se diferenciaron entre sí y fueron siempre mayores al consumo de adultos ( $12,20 \pm 1,11$ ) (Figura 8).



**Figura 8:** Número medio de presas, según estado o estadio (huevos, ninfas pequeñas (estadios I y II), ninfas grandes (estadios III, IV y V) y adultos de *Diaphorina citri*, depredadas por larvas de tercer estadio de *Chrysoperla externa*, en un ensayo “sin elección” de presas, llevado a cabo en condiciones de laboratorio ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  de HR y 16-8h de luz: oscuridad). Valores medios expresados en porcentajes ( $\pm$ ES), con la misma letra no presentan diferencias significativas, mediante comparación por pares (Chi-cuadrado de Wald=382,614, g.l. 3,  $P < 0,001$ ).

### 3.2. ENSAYO “CON ELECCIÓN” DE PRESAS

El depredador presentó preferencia por algunos tipos de presa cuando pudo elegir entre ellos (índice de preferencia  $Beta_2$  de Manly (Manly, 1972) y comparación mediante test de Wilcoxon). Se observó una preferencia por ninfas grandes frente a adultos y huevos, ninfas chicas sobre huevos, y adultos frente a huevos. En las otras combinaciones evaluadas no se comprobaron diferencias (Cuadro 2).

**Cuadro 2:** Valores medios del índice de preferencia de Manly para larvas de tercer estadio de *C. externa* depredando distintos tipos de presa de *D. citri* en condiciones controladas de laboratorio

Presas evaluadas	Índice de preferencia de Manly	Estadísticos de contraste	
		Z	P
Ninfas grandes	0,66 ± 0,10 <sup>a</sup>		
Adultos	0,34 ± 0,10 <sup>b</sup>	-2,71	< 0,017
Ninfas grandes	0,73 ± 0,08 <sup>a</sup>		
Huevos	0,27 ± 0,08 <sup>b</sup>	-2,809	0,005
Ninfas chicas	0,57 ± 0,06 <sup>a</sup>		
Huevos	0,27 ± 0,06 <sup>b</sup>	-2,809	0,005
Adultos	0,78 ± 0,23 <sup>a</sup>		
Huevos	0,22 ± 0,23 <sup>b</sup>	-2,47	0,013
Ninfas grandes	0,56 ± 0,10 <sup>a</sup>		
Ninfas chicas	0,44 ± 0,10 <sup>a</sup>	-1,174	0,24
Adultos	0,54 ± 0,20 <sup>a</sup>		
Ninfas chicas	0,46 ± 0,20 <sup>a</sup>	-0,767	0,443

Ninfas pequeñas: estadios I y II. Ninfas grandes: estadios III, IV y V

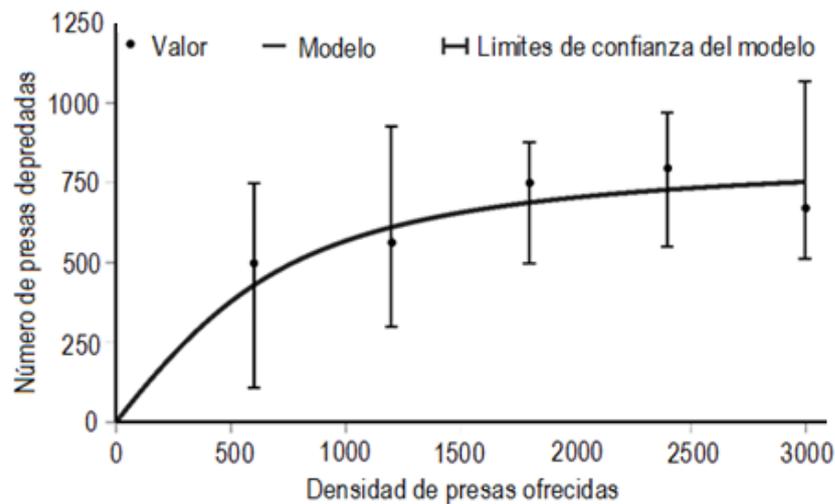
### 3.3. RESPUESTA FUNCIONAL

El consumo de ninfas grandes de *D. citri* por parte de las larvas de tercer estadio de *C. externa* presentó una respuesta funcional de tipo II. Así lo indicó el valor del parámetro  $P1$ , que fue significativamente negativo en todo el intervalo de los límites de confianza (según el criterio de Juliano, 1993) (Cuadro 3). Este resultado se confirmó mediante el ajuste de los datos a los

tres tipos de respuesta funcional, según las expresiones de Hassell (1978) y Cabello *et al.* (2007), y su posterior comparación mediante el índice de Akaike corregido (AIC<sub>c</sub>). La respuesta funcional tipo II presentó el menor valor de dicho índice (Figura 9, Cuadro 4).

**Cuadro 3:** Regresión logística, según Juliano (1993), para estimar el tipo de respuesta funcional de larvas del tercer estadio de *C. externa* depredando ninfas grandes de *D. citri* (estadios III, IV y V) en condiciones controladas

Parámetros	Ajustes			Tipo de función
	Valores	Error estándar (ES)	Límites de confianza (95%)	
$P_0$ (Intercepción)	2,0202	0,05138	1,91958    2,12101	II
$P_1$ (Linear)	-0,0017	0,00006	-0,00184    -0,00162	



**Figura 9:** Representación de los valores medios y valores del modelo según su ajuste al modelo de respuesta funcional tipo II de larvas del tercer estadio de *C. externa* depredando ninfas grandes de *D. citri* (estadios III, IV y V) a diferentes densidades en condiciones de laboratorio, considerando tiempo = 1 día. Valores en barras indican los límites de confianza del modelo a  $p = 0,05$ .

**Cuadro 4:** Parámetros y su significación estadística cuando los datos se ajustaron al modelo de respuesta funcional para larvas del tercer estadio de *C. externa* depredando ninfas grandes de *D. citri* (estadios III, IV y V) a diferentes densidades en condiciones de laboratorio, considerando tiempo = 1 día.

Tipo de respuesta funcional	Parámetros de ajuste (± Error Estándar)			Parámetros estadísticos		
	$a'$	$T_h$	$\alpha$	g.l.	$R^2$	AIC <sub>C</sub>
I	0,3647 (± 0,0616)	—	—	5	0,5442	55,669
II	2,5356 (± 2,1114)	0,0012 (± 0,002)	—	4	0,9582	44,589*
III	—	0,0024 (±1484,68)	0,0131 (±176,54)	4	0,9251	45,476

### 3.3.1 Tiempo de búsqueda ( $T_s$ ):

El tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) de la presa no presentó variación (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 178,322, g.l. = 198,  $p = 0,839$ , prueba ómnibus que compara el modelo ajustado con el modelo de sólo intersección). No se encontraron efectos del número acumulado de presas consumidas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 34,907, g.l. = 57,  $p = 0,991$ ), ni de la interacción número acumulado de presas consumidas\*densidad (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 121,464, g.l. = 137,  $p = 0,825$ ). Solo se detectó un efecto del factor densidad de presas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 25,778, g.l. = 4,  $p < 0,0001$ ). El valor del  $T_s$  ( $0,831 \pm 0,083$  min) para la densidad de 25 presas ofertadas fue mayor que el obtenido cuando se expuso un número mayor de presas (Cuadro 5).

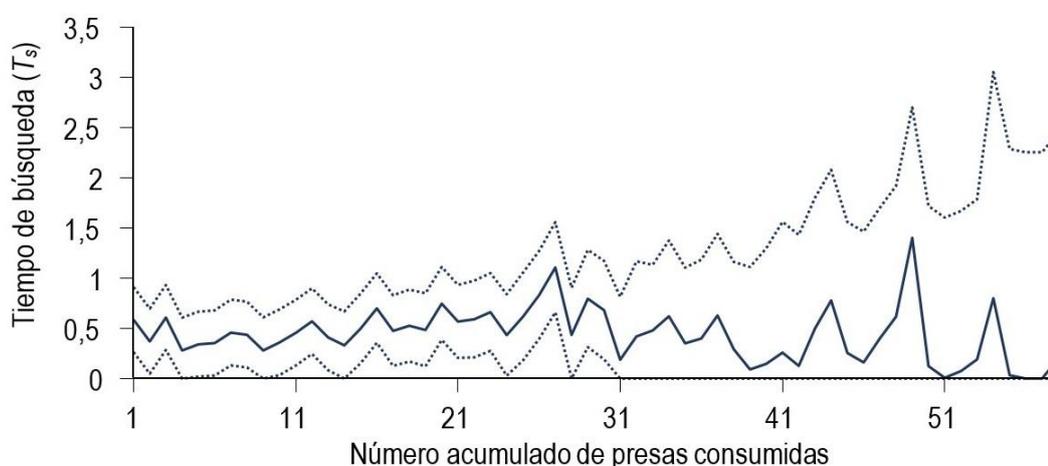
Si bien el número acumulado de presas consumidas no influyó en el  $T_s$ , cuando se graficó se comprobó un comportamiento más variable de  $T_s$  (indicado por la amplitud de los límites de confianza) a partir de la presa 31 y hasta el final del ensayo. Probablemente, influyó el bajo número de depredadores que llegaron a capturar y devorar tan elevado número de presas. Cuando se analiza la gráfica desde la presa 1 hasta la 30, se observa que el tiempo de búsqueda fue aumentando ligeramente. Ello probablemente se debió a que a medida que disminuye el número de presas, al ser consumidas y no repuestas, la probabilidad de nuevos

encuentros fue disminuyendo (Figura 10). Hay que tener en cuenta para explicar valores similares del tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) que en el ensayo se utilizó un único “patch (la placa de Petri usada como “arena”) de esta forma, como se indica anteriormente a partir de 31 presas los valores fueron iguales (ello representa el tiempo de búsqueda dentro del parche).

**Cuadro 5:** Valores medios del tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) utilizado por larvas de tercer estadio de *C. externa* (estadio III) según densidad de ninfas grandes de *D. citri* (estadios III, IV y V) obtenidos por observación (en minutos).

Densidad de presas	Estimaciones (en minutos)			
	Media	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald	
			Inferior	Superior
25	0,8301 <sup>a</sup>	0,08280	0,6678	0,9924
50	0,5436 <sup>b</sup>	0,08469	0,3776	0,7096
75	0,4979 <sup>b</sup>	0,07763	0,3457	0,6500
100	0,4056 <sup>b</sup>	0,07818	0,2524	0,5588
125	0,3079 <sup>b</sup>	0,09777	0,1162	0,4995

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas a  $p = 0,05$  (valor para la comparación por pares: Chi-cuadrado de Wald = 21,012; g.l. = 4,  $P < 0,001$ ).



**Figura 10:** Valores medios del tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) (en línea continua) (en minutos) y límites de confianza a  $p = 0,05$  (en línea punteada), utilizado por larvas de tercer estadio de *C.*

*externa* según número acumulado de ninfas de grandes de *D. citri* consumidas. Valores obtenidos por observación.

### 3.3.2. Tiempo de manipulación ( $T_h$ ):

El tiempo de manipulación ( $T_h$ ) de las presas por parte de *C. externa* presentó variación en el ensayo (Prueba ómnibus, que compara el modelo ajustado con el modelo de sólo intersección, originó una Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 376,503, g.l. = 198,  $p < 0,0001$ ). Es así que se comprobó un efecto significativo sobre  $T_h$  de la densidad de presas ofertadas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 21,496, g.l. = 4,  $P < 0,0001$ ), del número acumulado de presas consumidas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 195,962, g.l. = 57,  $P < 0,0001$ ), pero no de su interacción (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 149,716, g.l. = 137,  $P = 0,216$ ). El valor medio del  $T_h$  ( $1,040 \pm 0,081$ ) para la densidad de 100 presas ofertadas fue mayor que el  $T_h$  del resto de las densidades estudiadas (Cuadro 6).

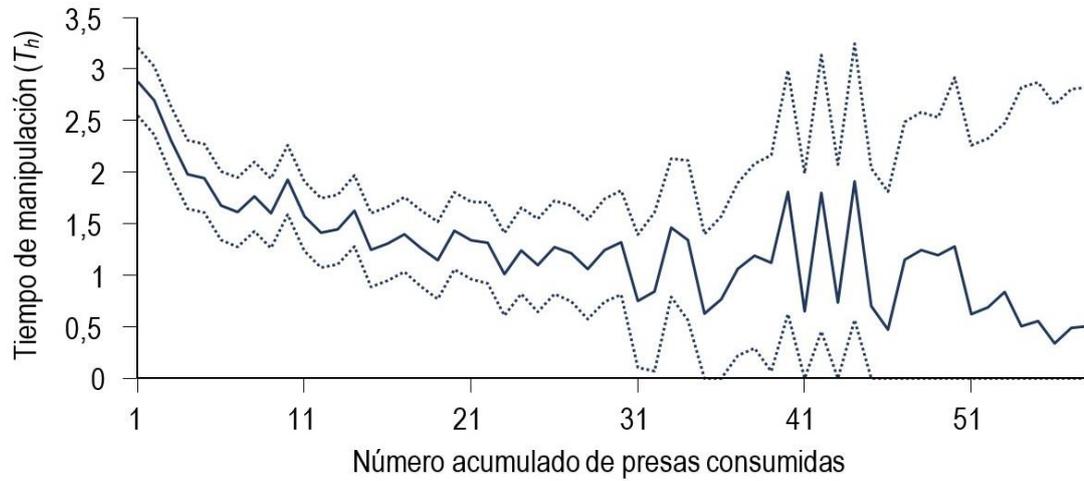
**Cuadro 6:** Valores medios del Tiempo de manipulación ( $T_h$ ) empleado por larvas de tercer estadio de *C. externa* según densidad de ninfas grandes de *D. citri*, obtenidos por observación (en minutos).

Densidad de presas	Estimaciones			
	Media	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald	
			Inferior	Superior
25	1,5929 <sup>a</sup>	0,08524	1,4258	1,7599
50	1,6051 <sup>a</sup>	0,08719	1,4342	1,7760
75	1,3784 <sup>a</sup>	0,07992	1,2218	1,5350
100	1,0403 <sup>b</sup>	0,08049	0,8826	1,1981
125	1,6639 <sup>a</sup>	0,10065	1,4666	1,8612

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas a  $p = 0,05$  (valor para la comparación por pares: Chi-cuadrado de Wald = 36,936; g.l. = 4,  $p < 0,001$ ).

Según el número acumulado de presas consumidas,  $T_h$  disminuye hasta la presa 31. De la primera a la tercera presa el tiempo de manipulación (en minutos) fue  $2,87 \pm 0,17$ ,  $2,69 \pm$

0,17,  $2,30 \pm 0,17$  respectivamente. Desde la cuarta hasta la onceava presa el tiempo varió de 2' a 1,5' y a partir de ésta hasta el 31  $T_h$  presentó valores entre 1 y 1,5' (Figura 11).



**Figura 11:** Valores medios del tiempo de manipulación ( $T_h$ ) (en línea continua) (en minutos) y límites de confianza a  $p = 0,05$  (en línea de puntos), utilizados por larvas de tercer estadio de *C. externa* según número acumulado de presas consumidas (ninfas grandes de *D. citri*), obtenidos por observación.

#### **4. DISCUSIÓN**

El consumo de todos los tamaños de *D. citri* ofertados en este estudio por parte de larvas del tercer estadio de *C. externa* coincide con lo señalado por Pacheco-Rueda et al. (2015) para esta especie y Palomares-Pérez et al. (2016) y Goldmann (2017) para otras especies de la familia Chrysopidae como enemigos naturales de este psílido. Las diferencias en el consumo de huevos, ninfas y adultos en condiciones de “no elección” estarían relacionadas con el tamaño de las presas, que afecta el tiempo de consumo (Albuquerque et al., 2012) e influyen en el éxito de la depredación a través de la relación entre el tamaño del depredador y la presa (Dean y Schuster, 1995). La disminución encontrada en el número de presas depredadas con el aumento del tamaño de las mismas (fruto que se requiere menos individuos para cubrir los requerimientos del depredador), coincide con lo observado por otros autores para el segundo estadio larval de *C. rufilabris* y *C. comanche* cuando fueron alimentadas con huevos y ninfas chicas y grandes de *D. citri* durante una hora (Cortez - Mondaca et al., 2011). Asimismo, Goldmann (2017), quién evaluó todos los estadios del *D. citri* como presas con los tres estadios larvales de *C. comanche* durante el mismo período de tiempo, encontró resultados similares a los observados en este estudio.

El mayor consumo de huevos podría estar explicado por su menor tamaño e inmovilidad, lo cual facilita su manipulación y, con ello, se reduce el tiempo de consumo por presa. Las ninfas son móviles y ejercen cierta resistencia a ser atacadas por depredadores (efecto anti-depredador), por lo que el número de presas depredadas en determinado tiempo en comparación con el número de huevos consumidos tiende a ser menor (Khan et al., 2016).

En acuerdo con Pacheco-Rueda et al. (2015), no se encontraron diferencias en el consumo de distintos tamaños de ninfas de *D. citri* en condiciones de no elección. No se confirmó un mayor consumo de ninfas chicas (estadios I y II) (con esbozos alares poco desarrollados lo que las hace más fáciles de manejar por el depredador) frente a las ninfas grandes (estadios III, IV y V) que poseen alas más desarrolladas y el tiempo de manipulación aumenta, como lo señalan Khan et al. (2016).

El menor consumo de adultos posiblemente estuvo influido por la presencia en éstos de alas completamente desarrolladas y funcionales al vuelo (Tsai y Liu, 2000). Esto les otorga mayor capacidad de escape del depredador y, en caso de ser capturados, el tiempo de manipulación es mayor. Cabe destacar que este es el primer registro de la tasa de consumo

de *C. externa* sobre adultos de *D. citri*. Por otra parte, si bien los adultos fueron menos consumidos que otros tamaños de presa, es particularmente importante este hallazgo dado que *D. citri* pasa el invierno como adulto (Amuedo 2011, Yang et al. 2006) y es frecuente encontrar este crisópido en cítricos en Uruguay en dicho momento del año (Pechi et al., 2016).

Por su parte, la preferencia por los tamaños intermedios de *D. citri* por parte de las larvas de tercer estadio de *C. externa* determinada en el estudio “con elección” de presa podría estar explicada por la baja eficiencia de alimentarse de presas excesivamente grandes debido a limitantes físicas y por los reducidos valores nutricionales de las presas pequeñas (Brose 2010, Pastorok 1981). Cuando las presas son grandes con respecto al depredador, el tiempo de manipulación (perseguir y someter, ingerir y digerir el recurso) es mayor (Brose, 2010) y el éxito de captura es bajo (Brose et al., 2008). La capacidad de defensa, el tamaño proporcional a la presa y la movilidad afectan directamente el ataque o la preferencia de presas de parte de *C. externa* (Janduí et al., 2007).

Si bien los huevos del psílido fueron los más consumidos en condiciones de “no elección”, cuando *C. externa* tuvo posibilidad de elegir no los prefirió. Esto podría estar explicado por su tamaño e inmovilidad que los hace más difícil de detectar visualmente (Sherestha y Enkegaard, 2013), en compensación con la debilidad que significa su estado inerte para reaccionar frente a un depredador señalado precedentemente por otros autores. Similar situación se alcanzó con *C. carnea*, cuando se le ofreció simultáneamente larvas y huevos de *Pieris brassicae* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae). Su larva de tercer estadio prefirió las primeras, probablemente debido a la inmovilidad de los huevos (Huang y Enkegaard, 2010). Por otro lado, alimentarse de presas más grandes es más eficiente debido a que se alcanza el nivel de saciedad con menor número de individuos atacados que cuando la presa es pequeña (Albuquerque et al., 2012).

Ninfas chicas fueron preferidas únicamente cuando fueron ofrecidas conjuntamente con huevos. Si bien la diferencia de tamaño no es tan marcada, sobre todo con el primer estadio (Tsai y Liu, 2000), es distinta su movilidad, lo cual puede favorecer la detección visual de la presa. También puede contribuir en la elección la producción de mielecilla por parte de las ninfas. Hay que tener en cuenta que los mayores componentes de la mielecilla son sacarosa, D-fructosa, manosa, trehalosa, myo-inositol, galactosa, ácido málico y ácido quínico (Killiny y Hijaz, 2012). Además de estos azúcares, contiene una capa delgada de cera similar a la de

abejas y otros ésteres de cera (Ammar et al., 2013). Esta fuente rica en carbohidratos es utilizada como complemento nutricional en dietas de enemigos naturales como crisópidos, coccinélidos y parasitoides (Purandare y Tenhumberg, 2012, Lundgren 2009, Hogervorst et al. 2008, Mehrnejad y Copland, 2006), estimula la oviposición, incrementa la sobrevivencia y fecundidad (Kishinevsky et al. 2018, Tena et al. 2013). Hogervorst et al., (2008), demostraron que larvas de otra especie de este mismo género (*C. carnea*) utilizan mielecilla producida por áfidos como fuente de alimento, incluso cuando posee presas de alta calidad nutricional disponibles *ad-libitum*. Sin embargo, si bien los crisópidos son insectos omnívoros, no pueden completar su desarrollo larval si se alimentan únicamente de mielecilla, debido a que el tipo de aminoácidos y sus concentraciones no son suficientes, por lo que es necesario el consumo de presas (Limburg y Rosenheim, 2001).

Por otra parte, señales químicas emitidas por presas, como es el caso de volátiles presentes en la mielecilla, son importantes para asegurar el encuentro depredador-presa (aumentan su eficiencia de búsqueda). Para ello contribuyen receptores sensoriales ubicados en los extremos de los palpos labiales y en las antenas del depredador que permiten reconocer químicamente a la presa cuando la encuentran (Albuquerque et al., 2012). Las larvas de crisópidos poseen la habilidad de aprender la asociación entre volátiles y la presencia de alimento (de Oliveira et al., 2019). Particularmente, cuando éstas presentan distribución agregada, como es el caso de *D. citri* (Costa et al., 2010), lo cual favorece la permanencia del depredador en el hábitat (Leroy et al. 2014, Purandare y Tenhumberg, 2012).

La falta de preferencia entre ninfas chicas y grandes es coincidente con el consumo observado en el ensayo de “no elección”, cuando dispusieron por separado de ambos tamaños. La preferencia por ninfas grandes frente a huevos y adultos podría estar asociada a la movilidad, la producción de mielecilla, al grado de desarrollo de las alas y a diferencias de tamaños.

El comportamiento observado de las larvas de tercer estadio de *C. externa*, cuando se alimentaron de ninfas grandes (N-III, IV y V) de *D. citri*, se ajustó a la respuesta funcional del tipo II. Este es el tipo de respuesta funcional más común en insectos (Holling 1959, Hassell 1978), particularmente en depredadores que se alimentan de presas inestables, e implica una rápida utilización del alimento por parte del depredador (Nordlund y Mirroson, 1990). A medida que aumentó la densidad del psílido, el consumo de *C. externa* se incrementó en forma

decreciente hasta alcanzar un valor asintótico equivalente a la densidad de saturación, a partir de la cual aumentó la probabilidad de escape de las presas. Esto se explica porque al aumentar la densidad de presas el tiempo dedicado a localizarlas disminuye, pero el tiempo de manipulación por parte del depredador se va incrementando (Juliano, 1993).

Resultados similares fueron reportados para esta especie con otras presas, como los pulgones *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae) (Fonseca et al., 2000), *Aphis gossypii* (Glover) (dos Santos et al., 2005), *Melanaphis sacchari* (Zehntner) (Palomares-Pérez et al., 2019) y las moscas blancas *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) (Castro et al., 2016). Asimismo, se ha observado este comportamiento en otros crisópidos, como *C. carnea* cuando se alimentó de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae) (Mahzoum et al., 2020), *Hyalopterus pruni* (Geoffroy) (Hemiptera: Aphididae) (Atlihan et al., 2004), *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) (Ail-Catzim et al., 2012), *T. vaporariorum* (Landeros et al., 2013) y *C. caligata* cuando depredó *Raoiella indica* (Hirst) (Acari: Tenuipalpidae) (Jumbo et al., 2019). También se ha constatado este tipo de respuesta funcional en el ectoparásitoide *T. radiata* (Chen et al. 2016, Baños-Díaz et al. 2014, Sule et al. 2014) y el depredador *H. axyridis* (Huang et al., 2018) cuando la presa fue *D. citri*.

Este tipo de respuesta funcional tiende a desestabilizar la interacción depredador-presa cuando la densidad de presa está por debajo del punto de saturación, pudiendo conducir a la extinción de la misma (Oaten y Murdoch, 1975). En estas condiciones, la proporción de presas consumidas es alta, lo cual es promisorio en programas de control biológico aumentativo (inundativo) (Nordlund y Mirroson, 1990). El objetivo de esta técnica es la reducción directa de la plaga en determinado momento, a diferencia del control biológico clásico en el cual se apunta a un control permanente (van Lenteren, 2012). Para esta última situación son preferibles los depredadores con respuesta funcional tipo III, que son teóricamente más capaces de regular las poblaciones de sus presas (Huffaker et al. 1971, Holling 1965). Es por ello que, en función de la respuesta funcional determinada en este estudio, *C. externa* podría ser un eficiente agente para la utilización de control biológico de *D. citri*, incluso cuando ésta se encuentra en bajas densidades poblacionales.

Las larvas de tercer estadio de *C. externa* presentaron mayor coeficiente de ataque ( $a'$ ) ( $2,5356 \pm 2,1114$ ) y menor tiempo de manipulación ( $T_h$ ) ( $0,0012 \pm 0,002$ ) frente a ninfas de *D. citri*, comparado con los valores señalados por Castro et al. (2016) sobre el consumo de ninfas

de *T. vaporariorum* ( $a' = 0,097$  y  $T_h = 0,062$ ) y por Palomares-Pérez et al. (2019) cuando la presa fue *M. sacchari* ( $a' = 0,0065$  y  $T_h = 1,0132$ ). Por otra parte, otros enemigos naturales comúnmente asociados a *D. citri*, como son *H. axyridis* (Huang et al., 2018) y *T. radiata* (Chen et al., 2016), presentaron menores coeficientes de ataque y tiempos mayores de manipulación que los obtenidos en este estudio.

La tasa de ataque o eficiencia de búsqueda y el tiempo de manipulación son indicadores de la potencialidad de un enemigo natural (Holling, 1959). El coeficiente de ataque depende de la distancia reactiva entre el depredador y la presa, del éxito de captura y la velocidad de movimiento de ambos (Brose, 2010). En el tiempo de manipulación influyen la movilidad de la presa y del depredador, así como el tiempo requerido para someter a la presa una vez capturada (Hassell, 1978). Entomófagos con alto coeficiente de ataque y bajo tiempo de manipulación son considerados agentes promisorios como controladores biológicos (Fathipour y Maleknia, 2016). Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio podrían sugerir una mayor eficacia de *C. externa* cuando se alimenta de *D. citri* que de las otras presas antes mencionadas, y superior que *H. axyridis* y *T. radiata* cuando consumen a esa misma presa.

El mayor tiempo de búsqueda constatado por observación a baja densidad de presas, comparado con densidades más altas de presas, pudo deberse a que en esta última situación las probabilidades de encuentros depredador-presa son mayores, fruto de ello, disminuyendo el tiempo necesario para encontrarlas. Los modelos de respuesta funcional asumen que el incremento de la tasa de captura es lineal con el aumento de la densidad (Okuyama, 2012). No obstante, en trabajos en los cuales el tiempo de búsqueda es evaluado por observación se ha demostrado que este incremento es menor que el aumento de la densidad de presa (Okuyama, 2012). Mols et al. (2004) encontraron resultados similares y atribuyeron este comportamiento al agotamiento de presas. Esto último podría explicar por qué se observó una tendencia al aumento del tiempo de búsqueda asociado al número acumulado de presas consumidas. A medida que este número aumenta, y al no haber reposición, se agota el recurso presas y por tanto disminuye la captura de presas.

La comprobación de la reducción del tiempo de búsqueda de *C. externa* con el aumento de la densidad de *D. citri* evidenciada en este estudio, coincide con lo demostrado por varios autores (por ejemplo, Okuyama 2010, Collins et al. 1981, Giller 1980, Cook y Cockrell 1978). En este fenómeno pudo haber influido un proceso de aprendizaje del depredador, teniendo en

cuenta que la especie de presa de cría era diferente a la especie de presa ofertada en el ensayo, tal como lo señalaron Landeros et al. (2013). La mayor variabilidad de los valores de  $Th$  con el consumo de un mayor número de presas (evidenciada a partir de la presa 31), probablemente se debió a que un menor número de depredadores superaron ese umbral, lo cual se reflejó en la amplitud de los límites de confianza. Se confirma así, el efecto de un mecanismo adaptativo asociado a  $Th$  para maximizar la tasa de ingesta energética dentro de la estrategia de forrajeo óptimo (Cook y Cockrell, 1978).

Por su parte, a bajas densidades el mayor tiempo de manipulación puede deberse a la necesidad de extraer todos los nutrientes disponibles en cada presa, así como la falta de aprendizaje. Los depredadores pueden maximizar su capacidad de búsqueda y manipulación de presas al aprender cómo aumentar el grado de rapiña (Landro et al., 2013). Si bien esta respuesta adaptativa puede estar relacionada a limitaciones intestinales y nivel de hambre de los depredadores (Okuyama, 2010), es probable que el tiempo de manipulación no esté gobernado solo por un factor dominante (van Rijn et al. 2005). Por lo tanto, deben tenerse en cuenta comportamientos característicos de las especies al examinar la respuesta funcional, sobre la base que el tiempo de manipulación adaptable puede ser un factor importante que contribuya a la estabilidad de las comunidades ecológicas (Okuyama, 2010).

El éxito o fracaso de un programa de control biológico no puede atribuirse únicamente a la respuesta funcional del controlador utilizado. Otros factores pueden contribuir a los resultados, como el momento y la forma de liberación, calidad y dosis del enemigo natural, así como las condiciones climáticas. Además, al momento de seleccionar un agente de control biológico deben considerarse aspectos como interacciones entre individuos y entre especies en condiciones naturales (Fernández-Arhex y Corley, 2004; 2003). No obstante, la respuesta funcional es un conocimiento comúnmente utilizado para estimar la potencialidad de uso de un enemigo natural en el control de una plaga (Jumbo et al., 2019).

## **5. CONCLUSIONES**

*Chrysoperla externa* es un depredador voraz, que se alimenta de todos los tamaños de *D. citri*. El consumo es mayor con presas pequeñas y, cuando puede optar, prefiere tamaños intermedios. Cuando se alimenta del psílido asiático de los cítricos su comportamiento se ajusta a una respuesta funcional del tipo II, es decir, es un depredador eficiente a bajas densidades de presa. Asimismo, posee alta eficiencia de búsqueda y bajo tiempo de manipulación con respecto a otros enemigos naturales de esta plaga, lo que lo posiciona como un agente de control biológico promisorio en métodos aumentativos o de conservación.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Adams PA, Penny ND. 1985. Neuroptera of the Amazon Basin. Part 11a. Introduction and Chrysopini. *Acta Amazonica*, 15, 416-479. doi: <https://doi.org/10.1590/1809-43921985153479>
- Agrestis A. 2015. Foundations of linear and generalized linear models. Hoboken: Wiley. 444p.
- Ail-Catzim C, Cerna E, Landeros J, Aguirre L, Flores M, Badii-Zabeh M, Ochoa-Fuentes Y. 2012. Respuesta funcional de diferentes instares larvales de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 44(2), 279-288. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382837651005>
- Albuquerque GS, Tauber CA, Tauber MJ. 2012. Green lacewing (Neuroptera: Chrysopidae): predatory lifestyle, pp 594-630. En: Panizzi RA, Parra JRP (eds.) *Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management*. Boca Ratón, CRC Press.
- Albuquerque GS, Tauber CA, Tauber M J. 1994. *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Life History and Potential for Biological Control in Central and South America. *Biological Control*, 4(1), 8–13. doi: <https://doi.org/10.1006/bcon.1994.1002>
- Álvarez S, Rohrig E, Solís D, Thomas MH. 2016. Citrus greening disease (Huanglongbing) in Florida: economic impact, management and the potential for biological control. *Agricultural Research*, 5(2), 109-118. doi: <https://doi.org/10.1007/s40003-016-0204-z>
- Ammar ED, Alessandro R, Shatters Jr RG, Hall DG. 2013. Behavioral, ultrastructural and chemical studies on the honeydew and waxy secretions by nymphs and adults of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *PLoS One*, 8(6), e64938. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064938>
- Amorós ME. 2017. Control de *Diaphorina citri* mediante metodologías eco-compatibles. Tesis Maestría en Ciencias Agrarias, opción Ciencias Vegetales. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 83 p.

- Amuedo S. 2011. Abundancia y agregación de *Diaphoria citri* (Hemiptera: Psyllidae). Tesis Maestría en Ciencias Agrarias, opción Ciencias Vegetales. Montevideo, Uruguay. Facultad de Argonomía. 70p.
- Asplanato G, Pazos J, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L, Franco J. 2011. El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): Primeros estudios bioecológicos en Uruguay. Montevideo, INIA Serie FPTA 28, 48p.
- Atlıhan R, Kaydan BORA, Özgökçe MS. 2004. Feeding activity and life history characteristics of the generalist predator, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) at different prey densities. *Journal of Pest Science*, 77(1), 17-21. doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-003-0021-6>
- Aubert B. 1987. *Trioza erythrae* Del Guercio and *Diaphorina citri* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies. *Fruits*, 42(3), 149-162.
- Baños Díaz HL, Miranda Cabrera I, Martínez MA, Ramírez S, Sánchez Castro A. 2014. Parámetros poblacionales de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) y *Tamarixia radiata* Waterston 1922 (Hymenoptera: Eulophidae) a diferentes densidades de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). *Entomotrópica*, 29(3), 139-148.
- Batool A, Iftikhar Y, Mughal MS, Khan MM, Jaskani JM, Abbas M, Khan AI. 2007. Citrus Greening Disease – A major cause of citrus decline in the world- A review. *Horticulturae Science*, 34: 159-166.
- Begon M, Harper JL, Townsend CR. 1996. *Ecology: Individuals, populations and communities*. Milan: Blackwell science publications. 346-351
- Berlanga-Padilla AM, Gallou A, Ayala-Zermeño MA, Serna-Domínguez MG, Montesinos-Matías R, Rodríguez-Rodríguez JC, Arredondo-Bernal HC. 2018. Hongos entomopatógenos asociados a *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) en Colima, México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 89(4), 986-1001. doi: <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2018.4.2334>

- Boina DR, Bloomquist JR. 2015. Chemical control of the Asian citrus psyllid and of Huanglongbing disease in citrus. *Pest Management Science*, 71(6), 808-823. doi: <https://doi.org/10.1002/ps.3957>
- Bové JM. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. *Journal of Plant Pathology*. 87(1): 7-37.
- Brose U. 2010. Body-mass constraints on foraging behaviour determine population and food-web dynamics. *Functional Ecology*, 24(1), 28-34. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01618.x>
- Brose U, Ehnes RB, Rall BC, Vucic-Pestic O, Berlow EL, Scheu S. 2008. Foraging theory predicts predator-prey energy fluxes. *Journal of Animal Ecology*, 77(5), 1072-1078. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01408.x>
- Cabello T, Gallego JR, Fernández FJ, Gámez M, Vila E, Pino M del, Hernández-Suárez E. 2012. Biological control strategies for the South American tomato moth *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) on greenhouse tomatoes. *Journal of Economic Entomology*, 105, 2085-2096. doi: <https://doi.org/10.1603/EC12221>
- Cabello T, Gámez M, Varga Z. 2007. An improvement of the Holling type III functional response in entomophagous species model. *Journal of Biological Systems*, 15(4): 515-524. doi: <https://doi.org/10.1142/S0218339007002325>
- Cabello T, Vargas P. 1988. Response of *Trichogramma cordubensis* and *T. pintoi* to different densities of alternative host eggs. *Les Colloques de l'INRA* 1988, 9, 165-172
- Cáceres S, González E, Heredia F, Aguirre A. 2010. Especies de la familia Chrysopidae que se alimentan de ninfas de psílido asiático en quintas de Corrientes. VI Congreso Argentino de Citricultura. Tucumán.
- Canard M, Principi MM. 1984. Development of Chrysopidae. En: *Biology of Chrysopidae*, Canard M, Semeria Y, New TR (eds), 'Biology of Chrysopidae'. Series Entomologica 27. W. Junk, The Hague: Springer. pp.57-75.
- Cardoso JT, Lazzari S. 2003. Development and consumption capacity of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) fed with *Cinara* spp. (Hemiptera, Aphididae) under

- three temperatures. *Revista Brasileira de Zoologia*, 20, 573-576. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-81752003000400002>
- Castro M, Martinez J, Dotor M. 2016. Evaluación del efecto regulador de *Chrysoperla externa* sobre mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en tomate. *Revista de Ciencias Agrícolas*. 33 (2): 43-54. doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.163302.51>
- Chailleux A, Bearez P, Pizzol J, Amiens-Desneux E, Ramirez-Romero R, Desneux N. 2013. Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. *Journal of Pest Science*, 86(3), 533-541. doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-013-0498-6>
- Chen AD, Gill TA, Pelz-Stelinski KS, Stelinski LL. 2017. Risk assessment of various insecticides used for management of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* in Florida citrus, against honey bee, *Apis mellifera*. *Ecotoxicology*, 26(3), 351-359. doi: <https://10.1007/s10646-017-1768-5>
- Chen, X, Wong SW, Stansly PA. 2016. Functional response of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) to densities of its host, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea). *Annals of the Entomological Society of America*, 109(3), 432-437. doi: <https://10.1093/aesa/saw018>
- Chen X, Stansly PA. 2014. Biology of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae), parasitoid of the citrus greening disease vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea): a mini review. *Florida entomologist*, 97(4), 1404-1413. doi: <https://doi.org/10.1653/024.097.0415>
- Chen CN. 1998. Ecology of the insect vectors of Citrus systemic diseases and their control in Taiwan. *Boletín. Department of Entomology, National Taiwan University Taipei, Taiwan, ROC*. 5p.
- Clarke SKV, Brown SE. 2018. Identification and Distribution of Haplotypes of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in Jamaica and the Caribbean. *Journal of Economic Entomology*, 111(5): 2401-2408. doi: <https://doi.org/10.1093/jeet/toy194>
- Coletta-Filho HD, Targon MLPN, Takita MA, De Negri JD, Pompeu Jr J, Machado MA., do Amaral AM, Muller GW. 2004. First report of the causal agent of Huanglongbing

- ("Candidatus Liberibacter asiaticus") in Brazil. *Plant Disease*, 88(12), 1382-1382. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.12.1382C>
- Collins MD, Ward SA, Dixon AFG. 1981. Handling time and the functional response of *Aphelinus thomsoni*, a predator and parasite of the aphid *Drepanosiphum platanoidis*. *The Journal of Animal Ecology*, 479-487. doi: <https://doi.org/10.2307/4069>
- Cook RM, Cockrell BJ. 1978. Predator ingestion rate and its bearing on feeding time and the theory of optimal diets. *The Journal of Animal Ecology*, 529-547. doi: <https://doi.org/10.2307/3799>
- Cortez-Mondaca E, López-Arroyo JI, Rodríguez-Ruiz L, Partida-Valenzuela MP, Pérez-Márquez J. 2016. Especies de Chrysopidae asociadas a *Diaphorina citri* Kuwayama en cítricos y capacidad de depredación en Sinaloa, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(2), 363-374. [fecha de Consulta 16 de Setiembre de 2019]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263145278012>
- Cortez-Mondaca E, López-Arroyo JI, Rodríguez-Ruiz L, Partida-Valenzuela MP, Pérez-Marquez J, González-Calderón VM. 2011. Capacidad de depredación de especies de Chrysopidae asociadas a *Diaphorina citri* Kuwayama en los cítricos de Sinaloa, México. En: 2° Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Montecillo, Texcoco, Edo. De México, 5 y 6 de diciembre de 2011. P. 323-333.
- Costa SS, Broglio SM, Dias-Pini NS, Santos DS, Santos JM, Duque FJ, Saraiva WV. 2020. Developmental biology and functional responses of *Leucochrysa (Nodita) azevedoi* fed with different prey. *Biocontrol Science and Technology*, 30(1), 42-50. doi: <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1687644>
- Costa MG, Barbosa JC, Yamamoto PT, Leal RM. 2010. Spatial distribution of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in citrus orchards. *Scientia Agricola*, 67(5), 546-554. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000500008>
- Da Graça JV, Douhan GW, Halbert SE, Keremane ML, Lee RF, Vidalakis G, Zhao H. 2016. Huanglongbing: An overview of a complex pathosystem ravaging the world's citrus.

- Journal of Integrative Plant Biology, 58(4), 373-387. doi: <https://doi.org/10.1111/jipb.12437>
- Dean DE, Shuster DJ. 1995. *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae) and *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphididae) as Prey for Two Species of Chrysopidae. Population Ecology, 24(6), 1562-1568. doi: <https://doi.org/10.1093/ee/24.6.1562>
- De Oliveira CM, Pallini A, Bernardo AMG, Veiga VR, de Brito LAR, Venzon M, de Lima ER, Janssen A. 2019. Associative learning in immature lacewings (*Ceraeochrysa cubana*). Entomologia Experimentalis et Applicata, 167, 772-782. doi: <https://doi.org/10.1111/eea.12821>
- Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology, 52:81–106. doi: <http://10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Dos Santos TM, Júnior ALB, Barbosa JC. 2005. Reposta funcional de *Chrysoperla externa* a *Aphis gossypii* em cultivares de algodoeiro. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica), 74, 41-47.
- Ehler LE. 1990. Introduction strategies in biological control of insects. In: Mackauer M, Ehler LE, Roland J (edit). Critical issues in biological control. Intercept, Andover, Hants (UK) p. 111-134.
- Eubanks MD, Denno RF. 2000. Health food versus fast food: the effects of prey quality and mobility on prey selection by a generalist predator and indirect interactions among prey species. Ecological Entomology, 25(2), 140-146. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2000.00243.x>
- Fang XD, Ouyang GC, Lu HL, Guo MF, Wu WN. 2018. Ecological control of citrus pests primarily using predatory mites and the bio-rational pesticide matriline. International Journal of Pest Management, 64(3), 262-270. doi: <https://doi.org/10.1080/09670874.2017.1394507>
- Fang X, Lu H, Ouyang G, Xia Y, Guo M, Wu W. 2013. Effectiveness of two predatory mite species (Acari: Phytoseiidae) in controlling *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Florida Entomologist, 1325-1333.

- Fathipour Y, Maleknia B. 2016. Mite predators. En: Omkar (Centre of Excellence in Biocontrol of Insect Pests, Ladybird Research Laboratory, Department of Zoology, University of Lucknow, Lucknow, India) (eds) 'Ecofriendly pest management for food security' (pp. 329-366). Academic Press: India. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00011-7>
- Fernández-Arhex V, Corley JC. 2004. La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. *Ecología Austral*, 14(1), 83-93. Disponible en: <https://www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecopoblaciones/TP/Respuesta%20funcional.pdf>
- Fernández-Arhex V, Corley JC. 2003. The functional response of parasitoids and its implications for biological control. *Biocontrol Science and Technology*, 13(4), 403-413. doi: <https://doi.org/10.1080/0958315031000104523>
- Fonseca AR, Carvalho CF, Souza B. 2000. Resposta Funcional de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) Alimentada com *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 29 (2), 309-317. doi: <https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000200013>
- Gamboa S, Souza B, Morales R. 2016. Actividad depredadora de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Hemiptera: Aphididae) en cultivo de *Rosa* sp. *Revista Colombiana de Entomología*. 42 (1): 54-58. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-04882016000100010](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882016000100010)
- García Y, Ramos YP, Sotelo PA, Kondo T. 2016. Biología de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) bajo condiciones de invernadero en Palmira, Colombia. *Revista Colombiana de Entomología*, 42(1), 36-42. doi: <http://dx.doi.org/10.25100/socolen.v42i1.6667>
- García J, Benítez E, López A. 2007. Efecto de la densidad de población de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre la eficiencia del depredador *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 8 (2): 17-21. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945023002>

- Garzo E, Bonani JP, Lopes JRS, Fereres A. 2012. Morphological description of the mouthparts of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Arthropod Structure & Development*, 41, 79-86. doi: <https://doi.org/10.1016/j.asd.2011.07.005>
- Gebiola M, Stouthamer R. 2019. Laboratory Hybridization Between the Green Lacewings *Chrysoperla comanche* (Neuroptera: Chrysopidae) and *Chrysoperla rufilabris*, Predators of the Asian Citrus Psyllid. *Journal of economic entomology*, 112(4), 1575-1580. doi: <https://doi.org/10.1093/jee/toz081>
- Giffoni J, Valera N, Díaz F, Vásquez C. 2007. Ciclo biológico de *Chrysoperla externa* (hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada con diferentes presas. Nota técnica. *Bioagro*, 19(2), 109-113. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612007000200007&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612007000200007&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Giller PS. 1980. The control of handling time and its effects on the foraging strategy of a heteropteran predator, *Notonecta*. *The Journal of Animal Ecology*, 49, 699-712.
- Goldmann A. 2017. Predators of Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) in Southern California Tesis Doctoral. Riverside, EEUU. University of California. 218p.
- Gottwald T, Poole G, McCollum T, Hall D, Hartung J, Bai J, Luo W, Posny D, Yong-Ping D, Taylor E, da Graca J, Polek ML, Schneider W. 2020. Canine olfactory detection of a vectored phyto-bacterial pathogen, *Liberibacter asiaticus*, and integration with disease control. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(7), 3492-3501. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1914296117>
- Gottwald TR, Graça JVD, Bassanezi RB. 2007. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. *Plant Health Progress*, 8(1), 31. doi: <https://doi.org/10.1094/PHP-2007-0906-01-RV>
- Grafton-Cardwell EE, Stelinski LL, Stansly PA. 2013. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. *Annual Review of Entomology*, 58, 413-432. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153542>
- Guershon M, Gerling D. 1999. Predatory behavior of *Delphastus pusillus* in relation to the phenotypic plasticity of *Bemisia tabaci* nymphs. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 92(3), 239-248. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00543.x>

- Hagen, K.S, Mills NJ, Gordh G, McMurtry JA. 1999. Terrestrial Arthropod Predators of Insect and Mite Pests, Chrysopidae. En: Bellows T.S. and T.W. Fisher (eds). 'Handbook of Biological Control: Principles and Applications of Biological Control'. San Diego, California. Academic Press, pp: 415-423.
- Halbert SE, Manjunath KL. 2004. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. Florida Entomologist, 87(3), 330-353. doi: [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0330:ACPSPA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0330:ACPSPA]2.0.CO;2)
- Halbert SE, Núñez CA. 2004. Distribution of the Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Rhynchota: Psyllidae) in the Caribbean basin. Florida Entomologist, 87(3), 401–402. doi: [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0401:dotacp\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0401:dotacp]2.0.co;2)
- Hall DG. 2008. Biological control of *Diaphorina citri*. En Proceedings of the International Workshop on Huanglongbing of citrus. Hermosillo, Sonora, México, pp 1-7.
- Haramboure M, Francesena N, Reboredo GR, Smaghe G, Alzogaray RA, Schneider MI. 2013. Toxicity of cypermethrin on the neotropical lacewing *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University, 78(2), 339-344.
- Hassell, M. 1978. Arthropod predator-prey systems. New Jersey: Princeton University Press. 248p.
- He Y, Zhao J, Zheng Y, Desneux N, Wu K. 2012. Lethal effect of imidacloprid on the coccinellid predator *Serangium japonicum* and sublethal effects on predator voracity and on functional response to the whitefly *Bemisia tabaci*. Ecotoxicology, 21, 1291-1300. doi: <http://doi.org/10.1007/s10646-012-0883-6>
- Hogervorst PA, Wäckers FL, Carette AC, Romeis J. 2008. The importance of honeydew as food for larvae of *Chrysoperla carnea* in the presence of aphids. Journal Applied of Entomology, 132(1), 18-25. doi: <https://doi.org/10.1111/5.1439-0418.2007.01247x>  
<https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2008.00412.x>

- Holling C. 1966. The functional response of invertebrate predators to prey density. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 98, 5-86.
- Holling CS. 1965. The Functional Response of Predators to Prey Density and its Role in Mimicry and Population Regulation. *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 97(45), 5-60. doi: <https://doi.org/10.4039/entm9745fv>
- Holling C. 1959. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Canadian Entomologist*, 91, 85-398.
- Houck MA, Strauss RE. 1985. The comparative study of functional responses: experimental design and statistical interpretation. *The Canadian Entomologist*, 117(5), 617-629. doi: <https://doi.org/10.4039/Ent117617-5>
- Huang Z, Qureshi J, Zhou X, Pu Z, Chen G, Yu J, Zhang H. 2018. Predation and functional response of the multi-coloured Asian lady beetle *Harmonia axyridis* on the adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*. *Biocontrol Science and Technology*, 1–15. doi: <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1553028>
- Huang CH, Enkergaaed A. 2010. Predation capacity and prey preference of *Chrysoperla carnea* on *Pieris brassicae*. *BioControl Journal of the International Organization for Biological Control*, 55 (3), 379-385. doi: <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9254-5>
- Huffaker CB, Messenger PS, DeBach P. 1971. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control. En: 'Biological control'. Springer, Boston, MA. pp. 16-67. doi: [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6531-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6531-4_2)
- Hulbert SH. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological monographs*, 54(2), 187-211.
- IBM Corp. 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Ivlev VS. 1961. *Experimental ecology of the feeding of fishes*. New Haven, Connecticut, USA. Yale University Press, pp: 41-113
- Jagoueix S, Bove JM, Garnier M. 1994. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the  $\alpha$  subdivision of the Proteobacteria. *International Journal of*

Systematic and Evolutionary Microbiology, 44(3), 379-386. doi:  
<https://doi.org/10.1099/00207713-44-3-379>

- Jandel Scientific. 1994. Table Curve 2D User's Manual. Versión 2.0. Jandel Scientific.
- Janduí SJ, Bezerra-do Nascimento AR, Da Silva MV. 2007. Informações sobre *Chrysoperla externa* (Campina Grande). Embrapa Algodão. Documentos 175, 1ª impressão. Disponible en:  
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/21100/1/DOC175.PDF>
- Jervis MA, Kidd N. 1986. Host feeding strategies in hymenopteran parasitoids. Biological Reviews, 61, 395-434.
- Juan-Blasco M, Qureshi JA, Urbaneja A, Stansly PA. 2012. Predatory mite, *Amblyseius swirskii* (Acari: Phytoseiidae), for biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Florida Entomologist, 543-551.
- Juliano S. 1993. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. En: Scheiner S, Gurevitch J. (eds). Design and analysis of ecological experiments. New York: Chapman & Hall. (pp. 178-196).
- Juliano SA, Williams FM. 1987. A comparison of methods for estimating the functional response parameters of the random predator equation. The Journal of Animal Ecology, 641-653. doi: <https://doi.org/10.2307/5074>
- Jumbo LOV, Teodoro AV, Rêgo AS, Haddi K, Galvão AS, de Oliveira EE. 2019. The lacewing *Ceraeochrysa caligata* as a potential biological agent for controlling the red palm mite *Raoiella indica*. Zoological Science, 7, e7123. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.7123>
- Keremane ML, Ramadugu C, Castaneda A, Díaz JE, Peñaranda EA, Chen J, Duan YP, Halbert SE, Lee RF. 2015. Report of 'Candidatus Liberibacter caribbeanus', a new citrus- and psyllid associated Liberibacter from Colombia, South America. (Abstr.) Phytopathology, 105, S4.71.
- Khan AA, Qureshi JA, Afzal M, Stansly PA. 2016. Two - Spotted Ladybeetle *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae): A Commercially Available Predator to Control Asian

- Citrus Psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). PLoS ONE, 11(9): e0162843. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162843>
- Killiny N, Hijaz F. 2012. Honeydew sugar composition of the phloem sap feeder, the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on citrus host plant. En: Annual Meeting of the Entomological Society of America. Knoxville, Tennessee, EE. UU, 10-15 de noviembre de 2012.
- Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA. 2005. Manual de fitopatología. São Paulo: Agronômica Ceres. Vol. 2, 651 p.
- Kishinevsky M, Cohen N, Chiel E, Wajnberg E, Keasar T. 2018. Sugar feeding of parasitoids in an agroecosystem: effects of community composition, habitat and vegetation. Insect conservation and diversity, 11(1), 50-57. doi: <https://doi.org/10.1111/icad.12259>
- Kistner EJ, Melhem N, Carpenter E, Castillo M, Hoddle MS. 2016. Abiotic and biotic mortality factors affecting Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) demographics in Southern California. Annals of the Entomological Society of America, 109(6), 860-871. doi: <https://doi.org/10.1093/aesa/saw053>
- Kuwayama S. 1908. Die Psylliden Japan I. Transactions of the Sapporo Natural History Society 2 (Partes 1-2). Sapporo, Japón. Sapporo Natural History Society, 149-189.
- Landeros JL, Guevara LP., Aguirre LA, Cerna E, Badii MH, Ochoa YM. 2013. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) eggs. Southwestern Entomologist, 38(2), 345-352. doi: <http://dx.doi.org/10.3958/059.038.0217>
- Leroy PD, Almohamad R, Attia S, Capella Q, Verheggen FJ, Haubruge E, Francis F. 2014. Aphid honeydew: An arrestant and a contact kairomone for *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae) larvae and adults. European Journal of Entomology, 111(2). doi: <https://doi.org/10.14411/eje.2014.028>
- Limburg DD, Rosenheim JA. 2001. Extrafloral nectar consumption and its influence on survival and development of an omnivorous predator, larval *Chrysoperla plorabunda* (Neuroptera: Chrysopidae). Environmental Entomology, 30(3), 595-604. doi: <https://doi.org/10.1603/0046-225X-30.3.595>

- Livdahl TP. 1979. Evolution of handling time: the functional response of a predator to the density of sympatric and allopatric strains of prey. *Evolution*, 33(2), 765-768. doi: <https://doi.org/10.2307/2407798>
- Lozano MG, Jasso J. 2012. Identificación de enemigos naturales de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en el estado de Yucatán, México. *Fitosanidad*, 16(1), 5-11.
- Lu HL, Li LT, Yu LC, He LM, Ouyang GC, Liang GW, Lu YY. 2019. Ectoparasitic mite, *Pyemotes zhonghuajia* (Prostigmata: Pyemotidae), for biological control of Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Systematic and Applied Acarology*, 24(3), 520-524. doi: <https://doi.org/10.11158/saa.24.3.15>
- Lundgren JG. 2009. Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. *Biological Control*, 51(2), 294-305. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.016>
- Magalhaes S, Tudorache C, Monteserrat M, van Maanen R, Sabelis MW, Janssen A. 2005. Diet of intraguild predator affect anti-predator behaviour in intraguild prey. *Behavior Ecology*, 16, 364-370.
- Mahzoum AM, Villa M, Benhadi-Marín J, Pereira JA. 2020. Functional Response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) Larvae on *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae): Implications for Biological Control. *Agronomy*, 10(10): 1511. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy10101511>
- Manly BFJ. 1972. Tables for the analysis of selective predation experiments. *Research Population Ecology*, 14, 74-81.
- Márquez ME, Vázquez LL, Rodríguez MG, Sifontes JLA, Fuentes F, Ramos M, Hidalgo L, Herrera L. 2020. Biological Control in Cuba. En: Van Lenteren JC, Bueno VH, Luna MG, Colmenarez Y eds. 'Biological Control in Latin America and the Caribbean: Its Rich History and Bright Future'. CABI. Vol 12, 176 p.
- Maselou D, Perdikis D, Fantinou A. 2015. Effect of hunger level on prey consumption and functional response of the predator *Macrolophus pygmaeus*. *Bulletin of Insectology*, 68(2), 211-218.

- Mead FW, Fasulo TR. 2010. Asian Citrus Psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama (Insecta: Hemiptera: Psyllidae). Gainesville, University of Florida (IFAS Extension, 33). 8p. Disponible en <https://journals.flvc.org/edis/article/view/118643>
- Mehrnejad MR, Copland MJ. 2006. Behavioral responses of the parasitoid *Psyllaephagus pistaciae* (Hymenoptera: Encyrtidae) to host plant volatiles and honeydew. *Entomological science*, 9(1), 31-37. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2006.00151.x>
- MGAP-DIEA (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Investigaciones Económicas Agropecuarias). 2021. Encuesta citrícola "Primavera 2020". Serie de Encuestas N°363. Montevideo, Uruguay. MGAP. 18p.
- Michaud JP. 2004. Natural mortality of Asian citrus psyllid (Homoptera: Psyllidae) in central Florida. *Biological control*, 29(2), 260-269. doi: [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(03\)00161-0](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00161-0)
- Michaud JP. 2002. Biological control of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in Florida: A preliminary report. *Entomological News*.113(3), 216-222. Disponible en: <https://swfrec.ifas.ufl.edu/hlb/database/pdf/00000239.pdf>
- Milonas PG, Kontodimas DC, Martinou AF. 2011. A predator's functional response: influence of prey species and size. *Biological control*, 59(2), 141-146. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.06.016>
- Miranda MP, Dos Santos FL, Bassanezi RB, Montesino LH, Barbosa JC, Sétamou M. 2018. Monitoring methods for *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) on citrus groves with different insecticide application programmes. *Journal of Applied Entomology*, 142(1-2), 89-96. doi: <https://doi.org/10.1111/jen.12412>
- Mitchell WA, Brown JS. 1990. Density-dependent harvest rates by optimal foragers. *Oikos*, 180-190. doi: <https://doi.org/10.2307/3565938>
- Mols CM, van Oers K, Witjes LM, Lessells CM, Drent PJ, Visser ME. 2004. Central assumptions of predator-prey models fail in a semi-natural experimental system. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(3), 85-87. doi: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0110>

- Monje B, Delgadillo D, Gómez JC, Varón EH. 2012. Manejo de *Neohydatothrips signifer* Priesner (Thysanoptera: Thripidae) en maracuyá (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) en el departamento del Huila (Colombia). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 13(1), 21-30.
- Motulsky H, Christopoulos A. 2003. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting. GraphPad Software, Inc.
- Naeem A, Afzal MBS, Freed S, Hafeez F, Zaka SM, Ali Q, Anward HMZ, Iftikhar A, Nawaz M. 2019. First report of thiamethoxam resistance selection, cross resistance to various insecticides and realized heritability in Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* from Pakistan. *Crop Protection*, 121, 11–17. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.03.004>
- Naeem A, Freed S, Jin FL, Akmal M, Mehmood M. 2016. Monitoring of insecticide resistance in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) from citrus groves of Punjab, Pakistan. *Crop Protection*, 86, 62-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.04.010>
- Nordlund DA, Morrison RK. 1990. Handling time, prey preference, and functional response for *Chrysoperla rufilabris* in the laboratory. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 57(3), 237-242. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01435.x>
- Núñez E. 1989. Ciclo biológico y crianza de *Chrysoperla externa* y *Ceraeochrysa cincta* (Neuroptera, Chrysopidae). *Revista Peruana de Entomología*, 31(1), 76-82.
- Oaten A, Murdoch WW. 1975. Functional response and stability in predator-prey systems. *The American Naturalist*, 109(967), 289-298. doi: <https://doi.org/10.1086/282998>
- Okuyama T. 2012. Behavioral states of predators stabilize predator–prey dynamics. *Theoretical ecology*, 5(4), 605-610. doi: <https://doi.org/10.1007/s12080-011-0150-0>
- Okuyama T. 2010. Prey density-dependent handling time in a predator-prey model. *Community Ecology*, 11(1), 91-96. doi: <https://doi.org/10.1556/comec.11.2010.1.13>
- Olazo GE, Reguilón C. 2008. Neuroptera. En L. E. Claps, G. Debandi & S. Roig-Juñent (Eds.), *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos* (Vol. 2, pp.235-248). Mendoza: Sociedad Entomológica Argentina.

- Onagbola EO, Meyer WL, Boina DR, y Stelinski LL. 2008. Morphological characterization of the antennal sensilla of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama Hemiptera: Psyllidae), with reference to their probable functions. *Micron*, 39: 1184-1191. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micron.2008.05.002>
- Outi Y, Cortese P, Santinoni L, Palma L, Agostini J, y Preusler C. 2014. HLB in Argentina: a New Disease Outbreak. *Journal of Citrus Pathology*, 1: 82.
- Pacheco-Rueda I, Lomeli-Flores JR, López-Arroyo JI, González-Hernández H, Romero-Nápoles J, Santillán-Galicia MT, Suárez-Espinosa J. 2015. Preferencia de tamaño de presa en seis especies de Chrysopidae (Neuroptera) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Revista Colombiana de Entomología* 41(2):187-193.
- Palomares-Pérez M, Bravo-Núñez M, Arredondo-Bernal HC. 2019. Functional Response of *Chrysoperla externa* (Hagen 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) Fed with *Melanaphis sacchari* (Zehntner 1897) (Hemiptera: Aphididae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 121(2), 256-264. doi: <https://doi.org/10.4289/0013-8797.121.2.256>
- Palomares-Pérez M, Barajas-Romero MI, Arredondo-Bernal HC. 2017. Producción masiva de *Ceraeochrysa valida* (Banks) (Neuroptera: Chrysopidae) a 30 °C. *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 33: 187-191. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902017005000504>
- Palomares-Pérez M, Ayala-Zermeño MA, Rodríguez-Vélez B, de la Cruz-Llanas JDJ, Sánchez-González JA, Arredondo-Bernal HC, Córdoba-Urtiz EG. 2016. Abundancia y depredación de *Ceraeochrysa valida* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) en Colima, México. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 32(3), 234-243. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902016005000008>
- Pappas ML, Broufas GD, Koveos DS. 2011. Chrysopid Predators and their Role in Biological Control. *Journal of Entomology*. 8: 301-326. doi: <https://doi.org/10.3923/je.2011.301.326>
- Pastorok RA. 1981. Prey vulnerability and size selection by *Chaoborus* larvae. *Ecology*, 62(5), 1311-1324. doi: <https://doi.org/10.2307/1937295>

- Pechi E, Aguirre A, Cáceres S, Asplanato G. 2016. Identificación y análisis faunístico de enemigos naturales asociados a *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Serie de actividades de difusión N° 769, Salto, Uruguay: INIA Salto Grande. 44p.
- Pérez E, Bertalmío A, Buenahora J, Otero A, Maeso D, Rivas F. 2019. El HLB: una enfermedad que amenaza la citricultura de Uruguay. Revista INIA N° 56, 70-74. Disponible en: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Paginas/publicacionAINFO-59680.aspx>
- Pitwak J, Ayres Oliveira Menezes J, Ventura MU. 2016. Preferencia, desarrollo y desempeño reproductivo de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) utilizando presas provenientes de trigo. Revista Colombiana de Entomología, 42(2), 118-124. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012004882016000200003&script=sci\\_ar text&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012004882016000200003&script=sci_ar text&lng=en)
- Purandare SR, Tenhumberg B. 2012. Influence of aphid honeydew on the foraging behaviour of *Hippodamia convergens* larvae. Ecological Entomology, 37(3), 184-192. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2012.01351.x>
- Qureshi JA, Stansly PA. 2011. Three homopteran pests of citrus as prey for the convergent lady beetle: Suitability and preference. Environmental entomology, 40(6), 1503-1510. doi: <https://doi.org/10.1603/EN11171>
- Qureshi JA, Stansly PA. 2009. Exclusion techniques reveal significant biotic mortality suffered by Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida citrus. Biological Control, 50(2), 129-136. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.04.001>
- Rapport DJ, Turner JE. 1970. Determination of predator food preferences. Journal of Theoretical Biology, 26(3), 365-372. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(70\)90089-5](https://doi.org/10.1016/0022-5193(70)90089-5)
- Rimoldi F, Schneider MI, Ronco AE. 2012. Short and long-term effects of endosulfan, cypermethrin, spinosad, and methoxyfenozide on adults of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). Journal of economic entomology, 105(6), 1982-1987. doi: <https://doi.org/10.1603/EC12189>

- Rodríguez-Palomera M, Cambero-Campos J, Robles-Bermúdez A, Carvajal-Cazola C, Estrada-Virgen O. 2012. Enemigos naturales asociados a *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) en Nayarit, México. *Acta zoológica mexicana*, 28(3), 625-629.
- Rogers ME, Stansly PA, Stelinski LL. 2014. Florida Citrus Pest Management Guide: Asian Citrus Psyllid and Citrus Leafminer. University of Florida. IFAS Extension. ENY-734. 9p.
- Rugno GR, Zanardi OZ, Parra JRP, Yamamoto PT. 2019. Lethal and sublethal toxicity of insecticides to the lacewing *Ceraeochrysa cubana*. *Neotropical entomology*, 48(1), 162-170. doi: <https://doi.org/10.1007/s13744-018-0626-3>
- Salamanca J, Devia EHV, Amaya OS. 2010. Cría y evaluación de la capacidad de depredación de *Chrysoperla externa* sobre *Neohydatothrips signifer*, trips plaga del cultivo de maracuyá. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11(1), 31-40.
- Sánchez J, Mellín M, Arredondo H, Vizcarra N, González A, Montesinos R. 2015. Psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). En: Arredondo, H. y Rodríguez, L. eds. 'Casos de control biológico en México'. México: Biblioteca Básica de Agricultura. 339-372.
- SENAVE (Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas, Paraguay). 2017. HLB EN PARAGUAY. Experiencias en la Gestión Nacional. Disponible en: <http://web.senave.gov.py:8081/docs/libros/Libro%20HLB%202017.pdf>.
- Senior L, McEwen P. 2001. The use of lacewings in biological control. En McEwen, New P, Whittington A (eds.), 'Lacewings in the Crop Environment'. Cambridge: Cambridge University Press. pp. 296-302. doi:<https://doi.org/10.1017/CBO9780511666117.014>
- Sherestha G, Enkengard A. 2013. The green lacewing, *Chrysoperla carnea*: Preference between lettuce aphids, *Nasonovia ribisnigri*, and western flower thrips, *Fankliniella occidentalis*. *Journal of Insect Science*, 13(94), 1-10.
- Shimwela MM, Narouei-Khandan HA, Halbert SE, Keremane ML, Minsavage GV, Timilsina S, Massawe DP, Jones JB, van Bruggen AH. 2016. First occurrence of *Diaphorina citri* in East Africa, characterization of the Ca. Liberibacter species causing huanglongbing

- (HLB) in Tanzania, and potential further spread of *D. citri* and HLB in Africa and Europe. *European Journal of Plant Pathology*, 146(2), 349-368. doi: <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0921-y>
- Skelley LH, Hoy MA. 2004. A synchronous rearing method for the Asian citrus psyllid and its parasitoids in quarantine. *Biological Control*, 29(1), 14-23. doi: [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(03\)00129-4](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00129-4)
- Statgraphics. 2010. Statgraphics Centurion XVI User Manual. StatPoint Technologies, Inc.
- Sule H, Muhamad R, Omar D, Hee AKW. 2014. Parasitism rate, host stage preference and functional response of *Tamarixia radiata* on *Diaphorina citri*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 16, 783-788.
- Taplin RH. 2007. Experimental design and analysis to investigate predator preferences for prey. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 344(1), 116-122. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2006.12.028>
- Téllez MM, Cabello T, Gámez M, Burguillo FJ, Rodríguez E. 2020. Comparative study of two predatory mites *Amblyseius swirskii* and *Transeius montdorensis* by predator-prey models to improve biological control on greenhouse cucumber. *Ecological Modelling*, 431, 190-197. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109197>
- Tena A, Pekas A, Waeckers FL, Urbaneja A. 2013. Energy reserves of parasitoids depend on honeydew from non-hosts. *Ecological Entomology*, 38(3), 278-289. doi: <https://doi.org/10.1111/een.12018>
- Texeira DDC, Ayres J, Kitajima EW, Danet L, Jagoueix-Eveillard S, Saillard C, Bové JM. 2005. First report of a huanglongbing-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil and association of a new *Liberibacter* species, "*Candidatus Liberibacter americanus*", with the disease. *Plant disease*, 89(1), 107-107. doi: <https://doi.org/10.1094/PD-89-0107A>
- Tian F, Mo X, Rizvi SA, Li C, Zeng X. 2018. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Guangdong of China. *Scientific Reports*. 8, 12587. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30674-5>

- Tiwari S, Stelinski LL, Rogers ME. 2012. Biochemical basis of organophosphate and carbamate resistance in Asian citrus psyllid. *Journal of Economic Entomology*, 105(2), 540-548. doi: <https://doi.org/10.1603/EC11228>
- Thompson DJ. 1975. Towards a predator-prey model incorporating age-structure: the effects of predator and prey size on the predation on the predation of *Daphnia magna* by *Ischnura elegans*. *The Journal of Animal Ecology*, 907-916.
- Tsai JH, Liu YH. 2000. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. *Journal of Economic Entomology*, 93(6), 1721-1725. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-93.6.1721>
- Turlings TC, Davison AC, Tamó C. 2004. A six-arm olfactometer permitting simultaneous observation of insect attraction and odour trapping. *Physiological Entomology*, 29(1), 45-55.
- Underwood AJ, Clarke KR. 2005. Solving some statistical problems in analyses of experiments on choices of food and on associations with habitat. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 318(2), 227-237. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.12.014>
- Urbaneja A, Jaques JA, Garrido A. 2001. Incidencia de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) en la depredación de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Gracillariidae). *Boletín de sanidad vegetal. Plagas*, 27(1), 65-74.
- Van Alebeek FA, Koning CM, De Korte EAP, Van Huis A. 1996. Egg-limited functional response of *Uscana lariophaga*, egg parasitoid of bruchid beetle pests in stored cowpea. *Entomologia experimentalis et applicata*, 81(2), 215-225. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb02034.x>
- Van Driesche RG, Bellows TS. 1996. Biology of arthropod parasitoids and predators. En: 'Biological control'. Boston, MA. Springer, pp. 309-336.
- Vankosky MA, Hoddle MS. 2016. Biological control of ACP using *D. aligarhensis*. *Citrograph*, 7, 68-72.
- Van Lenteren JC, Bueno VH, Luna MG, Colmenarez YC. 2020. Biological control in Latin America and the Caribbean: information sources, organizations, types and approaches

- in biological control. En: Biological control in Latin America and the Caribbean: its rich history and bright future. (pp. 1-20). CABI.
- Van Lenteren JC. 2012. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, 57(1), 1-20. doi: <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9395-1>
- Van Lenteren JC. 1986. Evaluation, mass production, quality control and release of entomophagous insects. *Biological Plant and Health Protection*. Stuttgart, Fischer, 31-56.
- Van Rijn PC, Bakker FM, van der Hoeven WAD, Sabelis MW. 2005. Is arthropod predation exclusively satiation-driven? *Oikos* 109: 101–116.
- Venzon M, Janssen A, Sabelis MW. 2002. Prey preference and reproductive success of the generalist predator *Orius laevigatus*. *Oikos*, 97:116–124. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.970112.x>
- Wajnberg É, Haccou P. 2008. Statistical tools for analyzing data in behavioral ecology of insect parasitoids. En: Wajnberg É, Bernstein C, van Alphen J (eds). *Behavioral Ecology of Insect Parasitoids: from Theoretical Approaches to Field Applications* (pp. 402-429). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. Bell.
- Wang H, Chan G, Lin H, Gong J, Liang K, Li X. 2001. Occurrence of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama in Thaizhou, Zhejaing, and its control. *Plant Protection Technology and Extension*. 21(3):20–21.
- Weihrauch F. 2008. Overwintering of common green lacewing in hibernation shelters in the Hallertau hop growing area. *Bulleting of Insectology*. 61: 67-71.
- Wenninger EJ, Hall DG. 2008. Daily and seasonal patterns in abdominal color in *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 101, 585–592. doi: [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2008\)101\[585:DASPIA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2008)101[585:DASPIA]2.0.CO;2)
- Yang Y, Huang MC, Beattie GA, Xia Y, Ouyang G, Xiong J. 2006. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: a status report for China. *International Journal of Pest Management*, 52(4), 343-352. doi:

<https://doi.org/10.1080/09670870600872994>



**6. PREFERENCIA DE TAMAÑO DE PRESA Y RESPUESTA FUNCIONAL DE *Chrysoperla externa* SOBRE *Diaphorina citri***

**Prey size preference and functional response of *Chrysoperla externa* over *Diaphorina citri***

**Preferencia de tamaño de presa y respuesta funcional de *Chrysoperla externa* sobre *Diaphorina citri***

**Preferência de tamanho de presa e resposta funcional de *Chrysoperla externa* sobre *Diaphorina citri***

Pechi, E<sup>1</sup>; Cabello, T<sup>2</sup>; Basso, C<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal, Montevideo, Uruguay. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-2831-535X>.

<sup>2</sup>Universidad de Almería, Escuela superior de Ingeniería, Departamento de Biología y Geología, Almería, España. ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1866-3801>.

<sup>3</sup>Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Departamento de Protección Vegetal, Montevideo, Uruguay ORCID <https://orcid.org/0000-0003-0427-3631>.

**Editor**

Evelin Pechi  
Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.  
ORCID

<https://orcid.org/0000-0002-2831-535X>

**Correspondence**

Evelin Pechi  
[epechi@fagro.edu.uy](mailto:epechi@fagro.edu.uy)

**Received** dd month yyyy

**Accepted** dd month yyyy

**Published** dd month yyyy

**Citation**

Pechi E, Cabello T, Basso C. Article title. Agrocienca Uruguay [Internet]. yyyy [cited dd mmm yyyy];v(i):artículo°. Available from: <http://agrociencauruguay.uy/ojs/index.php/agrocienca/article/view/xx>



## Abstract

*Diaphorina citri* is found in the northern part of Uruguay and is a vector of the bacteria responsible for Huanglongbing, a disease reported in neighboring countries. The consumption and preference for different sizes of *D. citri* and the functional response of *Chrysoperla externa*, a predator commonly associated with this prey, were evaluated. The studies were carried out in Petri dishes at 25 °C and 70 ± 5% RH, using third stage larvae, with an exposure time of 60'. 'No choice' tests were conducted with four treatments: eggs, small nymphs (stages I and II), large nymphs (stages III, IV and V), and adults. And test 'choice', where combinations of pairs of all sizes were evaluated (N=75). The functional response was estimated on large nymphs of *D. citri* with prey densities of 0, 25, 50, 75, 100 and 125. The highest consumption corresponded to eggs, followed by small and large nymphs, and was lower in adults ( $p < 0.05$ ). When it could choose, it preferred large nymphs over eggs and adults, female nymphs over eggs, and adults over eggs. *Chrysoperla externa* fed on all sizes of *D. citri*, but the highest consumption was on small prey and, when I can choose, it preferred intermediate sizes. The functional response of *C. externa* was type II, with an attack coefficient of  $2.54 \pm 2.11$  and handling time of  $0.0012 \pm 0.002$ . *Chrysoperla externa* would be an efficient predator at low prey densities and with good potential to consume *D. citri*. Useful in augmentative and conservative biological control.

**Keywords:** biological control, huanglongbing, predator, asian citrus psyllid

## Resumen

*Diaphorina citri* se encuentra en la zona norte de Uruguay y es vector de las bacterias responsables del Huanglongbing, enfermedad reportada en países limítrofes. Se evaluó el consumo y la preferencia por distintos tamaños de *D. citri* y la respuesta funcional del depredador *Chrysoperla externa*. Los estudios se realizaron en placas de Petri a 25 °C y 70 ± 5% HR, utilizando larvas de tercer estadio, con un tiempo de exposición de 60'. Se realizaron ensayos "sin elección" con cuatro tratamientos: huevos, ninfas chicas (estadios I y II), ninfas grandes (estadios III, IV y V) y adultos. Y ensayos "con elección", donde se evaluaron combinaciones de a pares de todos los tamaños (N=75). La respuesta funcional se estimó sobre ninfas grandes de *D. citri* con densidades de presa de 0, 25, 50, 75, 100 y 125. El mayor consumo correspondió a huevos, seguido de ninfas chicas y grandes, y fue menor en adultos ( $p < 0,05$ ). Cuando pudo optar prefirió ninfas grandes frente a huevos y adultos, ninfas chicas sobre huevos y de adultos frente a huevos. *Chrysoperla externa* se alimentó de todos los tamaños de *D. citri*, pero el mayor consumo se produjo sobre presas pequeñas y, cuando puedo optar, prefirió tamaños intermedios. La respuesta funcional de *C. externa* fue de tipo II, con un coeficiente de ataque de  $2,54 \pm 2,11$  y tiempo de manipulación de  $0,0012 \pm 0,002$ . *Chrysoperla externa* sería un depredador eficiente a bajas densidades de presa y con buen potencial de consumo de *D. citri*. Útil en control biológico aumentativo y conservativo.

**Palabras clave:** control biológico, huanglongbing, depredador, psílido asiático de los cítricos



## Resumo

*Diaphorina citri* é encontrada no norte do Uruguai e é vetor da bactéria responsável pelo Huanglongbing doença relatada em países vizinhos. Foram avaliados o consumo e a preferência por diferentes tamanhos de *D. citri* e a resposta funcional do predador *Chrysoperla externa*. Foram realizados estudos em placas de Petri a 25 °C e 70 ± 5 % UR, utilizando larvas de terceiro instar, com tempo de exposição de 60'. Ensaio sem chance de escolha foram conduzidos com quatro tratamentos: ovos, ninfas pequenas (I e II instares), ninfas grandes (III, IV e V instares) e adultos. E ensaios com chance de escolha, onde combinações de pares de todos os tamanhos foram avaliadas (N=75). A resposta funcional foi estimada em ninfas grandes de *D. citri* com densidades de presas de 0, 25, 50, 75, 100 e 125. O maior consumo correspondeu a ovos, seguido por ninfas pequenas e grandes, e foi menor em adultos ( $p < 0,05$ ). Quando teve chance de escolha, preferiu ninfas grandes a ovos e adultos, ninfas pequenas a ovos e adultos a ovos. *Chrysoperla externa* se alimentou de todos os tamanhos de *D. citri*, mas o maior consumo foi em presas pequenas e, quando teve chance de escolha, preferiu tamanhos intermediários. A resposta funcional de *C. externa* foi do tipo II, o coeficiente de ataque foi de  $2,54 \pm 2,11$  e o tempo de manipulação foi de  $0,0012 \pm 0,002$ . *Chrysoperla externa* seria um predador eficiente em baixas densidades de presas e com bom potencial para consumir *D. citri*. Útil no controle biológico aumentativo e conservativo.

**Palavras-chave:** controle biológico, huanglongbing, psíldeo asiático dos citros. predador

## 1. Introducción

Huanglongbing (HLB) es la enfermedad más destructiva en cítricos a nivel mundial, debido a los daños cualitativos y cuantitativos en el rendimiento y a la muerte temprana de árboles que ocasiona, lo que se traduce en graves pérdidas económicas<sup>(1)(2)(3)</sup>. Sus agentes causales son proteobacterias ( $\alpha$ ) gram negativas *Candidatus Liberibacter* spp. asociadas al floema. La propagación natural es a través de dos insectos: el psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) es vector de *Ca. L. asiaticus* y *Ca. L. americanus*, al tiempo que *Ca. L. africanus* es transmitida por la psila africana, *Trioza erytreae* Del Guercio (Hemiptera: Triozidae)<sup>(3)</sup>. HLB no tiene cura y su manejo se basa en la prevención y reducción de su dispersión mediante la implantación de plantas sanas, inspección y erradicación de plantas enfermas y control de sus vectores<sup>(4)</sup>.

*Diaphorina citri* se encuentra en predios citrícolas de la zona litoral norte de Uruguay<sup>(5)</sup>, mientras que HLB no se ha detectado<sup>(6)</sup>, pero se encuentra en países de la región: Argentina<sup>(7)</sup>, Brasil<sup>(8)</sup> y Paraguay<sup>(9)</sup>. Esta situación es de alto riesgo para la producción citrícola nacional ante la perspectiva del ingreso de HLB. Características de la plaga, como ciclos biológicos cortos, alta prolificidad, tolerancia a temperaturas extremas y su asociación con tejidos en crecimiento, dificultan su control<sup>(10)</sup>. Para reducir sus poblaciones es conveniente integrar diferentes tácticas de manejo y minimizar el uso de insecticidas químicos, con el fin de limitar la presencia de residuos en la fruta y efectos sobre el ambiente y la salud de los trabajadores de campo. En este contexto, el control biológico es una de las principales tácticas de manejo recomendadas<sup>(11)</sup>. Tiene que basarse en el conocimiento de la entomofauna benéfica



asociada a este psílido en condiciones locales.

En Uruguay, las crisopas son los enemigos naturales más abundantes, constantes y frecuentemente encontrados en cultivos comerciales de cítricos donde se encuentra la plaga. Entre ellos, se destaca *Chrysoperla externa* Hagen (Neuroptera: Chrysopidae), que se caracteriza por alimentarse de insectos de cuerpo blando como *D. citri*<sup>(12)</sup>, exhibir plasticidad ecológica, rápida locomoción, voracidad de larvas<sup>(13)</sup> y tolerancia a algunos insecticidas<sup>(14)</sup>.

La eficacia de un depredador está asociada, entre otras razones, a su preferencia por las presas. Esta inclinación se encuentra asociada a distintos factores, como el valor nutricional de las presas, que afecta positivamente su performance, producción de huevos<sup>(15)(16)</sup>, longevidad de adultos<sup>(15)</sup>, tiempo de desarrollo y capacidad de completar el ciclo<sup>(17)</sup>. La facilidad de ataque de las presas se encuentra asociada a la capacidad del depredador de detectar a las presas y de alimentarse de ellas y las defensas exhibidas por las mismas<sup>(18)(19)(20)(21)</sup>. En esta asociación influye significativamente el tamaño de la presa, con un efecto directo en el tiempo de manipulación y en la tasa de encuentros depredador-presa<sup>(22)</sup>.

El número de presas, en un tiempo determinado, que un depredador individual puede consumir, o el número de hospederos que puede atacar un parasitoide, está en función de la densidad de presas o hospederos y se conoce como respuesta funcional<sup>(23)(24)(25)</sup>. La misma es de utilidad para describir el parasitismo o depredación de un determinado enemigo natural debido a que afecta el desarrollo, reproducción y sobrevivencia del mismo<sup>(26)</sup>. Además, es una herramienta importante de evaluación de la

potencialidad de un agente de control biológico, porque relaciona el consumo per cápita de un depredador con la densidad de alimento disponible<sup>(27, 28)</sup> y permite estimar la densidad asintótica de presas, por encima de la cual aumenta la probabilidad de escape de las presas<sup>(29)</sup>.

El objetivo de este estudio fue evaluar la potencialidad de *C. externa* como agente de control biológico de *D. citri*. Para ello, se determinó la preferencia de este depredador por individuos de diferente tamaño de *D. citri* y la respuesta funcional de larvas de tercer estadio de *C. externa* cuando se alimentaron con ninfas grandes de esa presa.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Condición general de los experimentos

Los ensayos fueron realizados en la Unidad de Entomología de la Facultad de Agronomía de la Universidad de la República (Montevideo, Uruguay) (34°50'13"S / 56°13'16"W) y en la Estación Experimental Salto Grande del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) (Salto, Uruguay) (31°42'S / 55°49'W), entre diciembre de 2017 y diciembre de 2018.

Los depredadores utilizados en los experimentos fueron extraídos de una colonia localizada en la primera institución antes mencionada (Figura 1), al tiempo que los individuos de *D. citri* provinieron de una colonia instalada en la segunda institución (Figura 2). Ambas colonias se originaron de colectas realizadas en montes de cítricos de los alrededores de la ciudad de Salto y se mantuvieron en condiciones controladas en los laboratorios respectivos (25 ± 2 °C, 70 ± 5% HR). Los adultos de *C. externa* fueron alimentados con una dieta artificial similar a la utilizada en el Centro Nacional de Referencia de Control Biológico



(México)<sup>(30)</sup>. Por su parte, las larvas de esta especie consumieron huevos de *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) suministrados por la Unidad de Entomología de la Facultad de Agronomía.

Las unidades experimentales consistieron en placas de Petri de 5,5 cm de diámetro en las que se colocaron cuatro discos de papel toalla humedecido y un disco de 'limón Cravo' (*Citrus limonia*) libre de aplicaciones de insecticida. Las placas de Petri se cubrieron con film perforado (agujeros hechos con aguja histológica) para evitar el escape de insectos y la condensación de humedad. Las pruebas se realizaron en cámaras climatizadas a  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 5\%$  HR, 16: 8 h de Luz: Oscuridad.

Figura 1. *Chrysoperla externa*. A. Adulto. B. Tercer estadio larval.



Figura 2. *Diaphorina citri*. A. Huevos. B. Primer estadio ninfal. C. Quinto estadio ninfal. D. Adulto (foto: V. Galván).



En todos los ensayos el tiempo de exposición de la presa al depredador fue de una hora, siguiendo a Collins et al.<sup>(31)</sup> y lo observado en nuestras pruebas preliminares evaluando la voracidad de las larvas y la disponibilidad de presa. Por su parte, las larvas de depredadores tuvieron un ayuno previo de 24 horas para estandarizar el nivel de saciedad, siguiendo las experiencias de Costa et al.<sup>(32)</sup> y Maselou et al.<sup>(33)</sup>. Las observaciones se realizaron bajo un microscopio estereoscópico 40x (Olympus modelo SZ51).

## 2.2 Ensayos “sin elección” de presas

Se llevaron a cabo pruebas "sin elección" de presas para evaluar si *C. externa* se alimenta de los diferentes tamaños de *D. citri* y su capacidad de depredación sobre ellos. Esta técnica consiste en exponer al depredador a un solo tipo de presa y contar el número de individuos consumidos durante un período de tiempo. Los tipos de presa fueron: huevos, ninfas pequeñas (primer y segundo estadio), ninfas grandes (tercer, cuarto y quinto estadio) y adultos. Se evaluó el tercer estadio larvario de *C. externa* por ser el más voraz (alrededor del 70-80% del consumo total de presas durante el desarrollo larvario)<sup>(34)(35)</sup>. En cada unidad experimental se expusieron 75 presas y realizaron diez repeticiones por tipo de presa.

Las diferentes opciones y sus repeticiones se consideraron pseudo-repeticiones porque no pudieron ser realizadas simultáneamente<sup>(36)(37)</sup>. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó Modelos Lineales Generalizados (GLM)<sup>(38)(39)</sup>. Los modelos se ajustaron mediante estimación de máxima verosimilitud con el procedimiento GenLin, con errores según distribución de Poisson y función de enlace logarítmico. Los valores medios se compararon por pares con  $p =$



0,05.

### 2.3 Ensayos “con elección” de presas

Para determinar la preferencia de las larvas del tercer estadio de *C. externa* por diferentes tipos de presas de *D. citri* se realizó un ensayo “con elección” de presas. Para ello se expuso al depredador a más de un tipo de presa simultáneamente durante un período de tiempo y se registró el número de individuos consumidos de cada uno. Se evaluaron las siguientes combinaciones de tipos de presas tomadas en parejas: huevos y ninfas pequeñas, huevos y ninfas grandes, huevos y adultos, ninfas pequeñas y ninfas grandes, ninfas pequeñas y adultos, y ninfas grandes y adultos. En cada unidad experimental se colocaron 75 individuos de cada tipo según la combinación a evaluar, junto con una larva depredadora. Al final del período de exposición (1 hora), se contó el número de individuos depredados de cada tipo y se calculó el índice de preferencia antes mencionado.

Los valores correspondientes a la presa consumida en cada ensayo fueron expresados mediante el índice de preferencia Beta<sub>2</sub> de Manly (40):

$$Beta_2 = \ln\left(\frac{R}{r}\right) / \left[ \ln\left(\frac{B}{b}\right) + \ln\left(\frac{R}{r}\right) \right]$$

donde R es el número ofrecido de la presa 1 y r el número no depredado de la presa 1 y B el número ofrecido de la presa 2 y b el número no depredado de la presa 2. En cada grupo de pruebas, los índices se compararon utilizando el Wilcoxon test (software estadístico IBM SPSS, versión 23.0)<sup>(41)</sup>. Al igual que en el estudio “sin elección de presas”, las repeticiones no se realizaron simultáneamente, por lo cual se consideraron pseudo-repeticiones.

### 2.4 Respuesta Funcional

En los ensayos se utilizaron ninfas grandes (tercer, cuarto y quinto estadio) que fue el

tipo de presa preferida en los estudios antes mencionados y sin reposición de las mismas durante el ensayo. El número de presas utilizadas fueron: 0, 25, 50, 75, 100 y 125. Los valores máximos y mínimos fueron establecidos en base a ensayos preliminares (no publicados).

#### 2.4.1. Cálculo de la respuesta funcional

A partir de los datos del número de presas consumidas, se efectuaron dos tipos de análisis estadísticos para el cálculo de la respuesta funcional. En primer lugar, con todos los datos se realizó una regresión logística entre la proporción de presas consumidas y el número de presas ofrecidas (densidad de presas), según la función polinómica utilizada por Juliano<sup>(23)</sup>. Para ello, se aplicó la ecuación:

$$\frac{N_e}{N_0} = \frac{EXP(P_0 + P_1 N_0 + P_2 N_0^2 + P_3 N_0^3)}{1 + EXP(P_0 + P_1 N_0 + P_2 N_0^2 + P_3 N_0^3)}$$

donde  $N_e$  es el número de presas consumidas,  $N_0$  es el valor inicial de presas ofrecidas y  $P_0$ ,  $P_1$ ,  $P_2$  y  $P_3$  son los coeficientes de corte, lineal, cuadrático y cúbico, estimados mediante regresión logística. Se utilizó para ello el procedimiento de regresión logística y estimación de máxima verosimilitud mediante el software estadístico Statgraphic Centurion XVI versión 16.1.18<sup>(42)</sup>. Cuando el coeficiente  $P_1$  fue significativamente igual a cero se consideró una respuesta funcional tipo I (se consideró valor distinto de cero cuando dicho valor no estaba incluido en su intervalo de confianza);  $P_1$  significativamente negativo indicó una respuesta funcional tipo II y  $P_1$  significativamente positivo indicó una respuesta funcional tipo III.

En segundo lugar, con los valores medios del número de presas depredadas a cada densidad de presas ofertadas (expresados en días), se ajustaron los datos a los tres



tipos de respuesta funcional, utilizando las ecuaciones dadas por Hassell<sup>(43)</sup> y Cabello *et al.*<sup>(44)</sup>, como se detalla a continuación:

a. Respuesta funcional tipo I <sup>(43)</sup>:

$$N_a = N[1 - \text{EXP}(-a'TP)]$$

donde  $N_a$  representa el número de presas atacadas,  $N$  es el número de presas ofrecidas,  $a'$  es el coeficiente de ataque (días<sup>-1</sup>),  $T$  es el tiempo de exposición de la presa al depredador (en días) y  $P$  es el número de depredadores presentes. Se consideró  $P = 1$  (depredador) y  $T = 1$  (día).

b. Respuesta funcional tipo II <sup>(43)</sup>:

$$N_a = N \left\{ 1 - \text{EXP} \left[ a'P \left( T - \frac{T_h N_a}{P} \right) \right] \right\}$$

donde  $T_h$  es el tiempo de manipulación o tiempo invertido en la captura, manipulación e ingesta de la presa (en días) y el resto igual que en la ecuación anterior. Igualmente, se consideró  $P = 1$  (depredador) y  $T = 1$  (día).

c. Respuesta funcional tipo III<sup>(44)</sup>:

$$N_a = N \left\{ 1 - \text{EXP} \left[ - \frac{\alpha NP}{(1 + T_h(\text{EXP}(-\alpha) - 1)N) \left( T - \frac{T_h N_a}{P} \right)} \right] \right\}$$

donde  $\alpha$  mide el potencial de depredación (valor comprendido entre 0 y 1) y el resto igual que anteriormente. También se consideró  $P = 1$  (depredador) y  $T = 1$  (día).

Los ajustes a las ecuaciones anteriores se realizaron mediante regresión no lineal usando el software estadístico Tablecurve 2D, versión 5.0<sup>(45)</sup>. Para elegir el mejor tipo de ajuste se utilizó el índice de Akaike corregido ( $AIC_c$ ), que es un estadístico más preciso para la comparación entre modelos que el coeficiente de regresión ( $R^2$ )<sup>(46)</sup>. Sin embargo, dicho coeficiente también se calculó para establecer la bondad de los

ajustes de regresión no lineal, en cada tipo de respuesta funcional; dichos valores no son comparables entre tipos de respuesta funcional al presentar diferentes grados de libertad. Lo que se obvia con la utilización del  $AIC_c$ .

2.4.2. Determinación del tiempo de búsqueda y el tiempo de manipulación

Todas las repeticiones del ensayo de respuesta funcional fueron filmadas con una cámara de video (Panasonic HC-V250). Posteriormente, en una computadora se observó el video, se registró el tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) (tiempo desde que deja una presa y encuentra la siguiente) y el tiempo de manipulación ( $T_h$ ) (captura, manipulación e ingesta de cada presa) de cada repetición y se asoció al número acumulado de presas consumidas en todos los tratamientos y repeticiones.

El análisis estadístico utilizado fue univariante factorial, considerando dos factores: densidad de presas y número acumulado de presas consumidas, así como su interacción. El número de repeticiones por factor fue variable porque los depredadores no consumieron el mismo número de presas, como no se realizaron simultáneamente, se consideraron pseudo-repeticiones. Por ello, los datos observados de los tiempos de búsqueda ( $T_s$ ) y tiempos de manipulación ( $T_h$ ) fueron analizados estadísticamente mediante un MLGZ. El procedimiento operativo y el software estadístico utilizado es el anteriormente indicado, con la salvedad que se utilizó una distribución del error normal y la función de enlace fue la identidad (esto último indica que no se transformaron los datos).

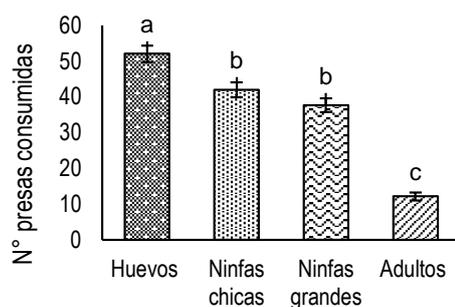


### 3. Resultados

#### 3.1 Ensayos “sin elección” de presas

Las larvas de tercer estadio de *C. externa* se alimentaron de todos los tipos de presas de *D. citri*. Sin embargo, existió un efecto del tipo de presa (huevos, ninfas chicas, ninfas grandes y adultos) sobre el número de presas consumidas (Prueba omnibus, que comparó el modelo ajustado con el modelo de sólo intersección, Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 284,590, g.l. = 3,  $p < 0,0001$ ). El mayor número de presas consumidas correspondió a huevos ( $52,00 \pm 2,28$ ), seguido por el consumo de ninfas chicas ( $42,00 \pm 2,05$ ) y grandes ( $37,60 \pm 1,94$ ) que no se diferenciaron entre sí; todos ellos mayores que el consumo de adultos ( $12,20 \pm 1,11$ ) (Figura 3).

Figura 3. Número medio de presas, según tipo (huevos, ninfas pequeñas (estadios I y II), ninfas grandes (estadios III, IV y V) y adultos de *D. citri*), depredadas por larvas de tercer estadio de *C. externa*, en un ensayo “sin elección” de presas, llevado a cabo en condiciones de laboratorio ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  de HR y 16:8 h de Luz: Oscuridad). Valores medios expresados en porcentajes ( $\pm$ ES), con la misma letra no presentan diferencias significativas, mediante comparación por pares (Chi-cuadrado de Wald=382,614, g.l. 3,  $p < 0,001$ ).



#### 3.2 Ensayo “con elección” de presas

El depredador presentó preferencia por algunos tipos de presa cuando pudo elegir entre ellos (índice de preferencia  $Beta_2$  de Manly<sup>(40)</sup> y comparación mediante test de Wilcoxon). Se observó una preferencia por ninfas grandes frente adultos y huevos, ninfas chicas sobre huevos, y

adultos frente a huevos. En las otras combinaciones evaluadas no se comprobaron diferencias (Cuadro 1).

Tabla 1. Valores medios del índice de preferencia de Manly para larvas de tercer estadio de *C. externa* depredando distintos tipos de presa de *D. citri* en condiciones controladas de laboratorio ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  de HR y 16:8 h de Luz: Oscuridad).

Presas evaluadas	Índice de preferencia de Manly	Estadísticos de contraste	
		Z	P
Ninfas grandes	0,66 ± 0,10 <sup>a</sup>	-2,71	< 0,017
Adultos	0,34 ± 0,10 <sup>b</sup>		
Ninfas grandes	0,73 ± 0,08 <sup>a</sup>	-2,809	0,005
Huevos	0,27 ± 0,08 <sup>b</sup>		
Ninfas chicas	0,57 ± 0,06 <sup>a</sup>	-2,809	0,005
Huevos	0,27 ± 0,06 <sup>b</sup>		
Adultos	0,78 ± 0,23 <sup>a</sup>	-2,47	0,013
Huevos	0,22 ± 0,23 <sup>b</sup>		
Ninfas grandes	0,56 ± 0,10 <sup>a</sup>	-1,174	0,24
Ninfas chicas	0,44 ± 0,10 <sup>a</sup>		
Adultos	0,54 ± 0,20 <sup>a</sup>	-0,767	0,443
Ninfas chicas	0,46 ± 0,20 <sup>a</sup>		

Ninfas pequeñas: estadios I y II. Ninfas grandes: estadios III, IV y V

#### 3.3 Respuesta funcional

El consumo de ninfas grandes de *D. citri* por parte de las larvas de tercer estadio de *C. externa* presentó una respuesta funcional de tipo II. Así lo indicó el valor del parámetro  $P1$ , que fue significativamente negativo en todo el intervalo de los límites de confianza (según el criterio de Juliano<sup>(23)</sup>) (Tabla 2). Esto se confirmó mediante el ajuste de los datos a los tres tipos de respuesta funcional, según las expresiones de Hassell<sup>(43)</sup> y Cabello *et al.*<sup>(44)</sup>, y su posterior comparación mediante el índice de Akaike corregido (AIC<sub>c</sub>). La respuesta funcional tipo II presentó el menor valor de



dicho índice (Tabla 3).

Tabla 2. Regresión logística, según Juliano<sup>(23)</sup>, para estimar el tipo de respuesta funcional de larvas del tercer estadio de *C. externa* depredando ninfas grandes de *D. citri* en condiciones de laboratorio ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  de HR y 16-8 h de Luz: Oscuridad).

Parámetros	Ajustes			Tipo de función
	Valores	Error estándar (ES)	Límites de confianza (95%)	
$P_0$ (Intercepción)	2,0202	0,05138	1,91958 2,12101	II
$P_1$ (Linear)	-0,0017	0,00006	-0,00184 -0,00162	

### 3.3.1 Tiempo de búsqueda

El tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) utilizado por el depredador no presentó variación (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 178,322, g.l. = 198,  $p = 0,839$ , prueba de ómnibus que compara el modelo ajustado con el modelo de sólo intersección). No se encontraron efectos del número acumulado de presas consumidas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 34,907, g.l. = 57,  $p = 0,991$ ), ni de la interacción número acumulado de presas consumidas\*densidad (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 121,464, g.l. = 137,  $p = 0,825$ ). Solo se detectó un efecto del factor densidad de presas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 25,778, g.l. = 4,  $p < 0,0001$ ). El valor del  $T_s$  ( $0,831 \pm 0,083$  min) para la densidad de 25 presas ofertadas fue mayor que el obtenido cuando se expuso un número mayor de presas (Tabla 4).

Tabla 3. Parámetros y su significación estadística cuando los datos se ajustaron al modelo de respuesta funcional para larvas del tercer estadio de *C. externa* depredando ninfas grandes de *D. citri* a diferentes densidades en condiciones de laboratorio ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  de HR y 16-8 h de Luz/Oscuridad), considerando

tiempo = 1 día.

Tipo de respuesta funcional	Parámetros de ajuste ( $\pm$ Error Estándar)			Parámetros estadísticos		
	$a'$	$T_h$	$\alpha$	g.l.	$R^2$	AIC <sub>c</sub>
I	0,3647 ( $\pm 0,0616$ )	—	—	5	0,5442	55,669
II	2,5356 ( $\pm 2,1114$ )	0,0012 ( $\pm 0,002$ )	—	4	0,9582	44,589*
III	—	0,0024 ( $\pm 1484,68$ )	0,0131 ( $\pm 176,54$ )	4	0,9251	45,476

Si bien el número acumulado de presas consumidas no influyó en el  $T_s$ , cuando se graficó se comprobó un comportamiento más variable de  $T_s$  (indicado por la amplitud de los límites de confianza) a partir de la presa 31 y hasta el final del ensayo. Probablemente, influyó el bajo número de depredadores que llegaron a capturar y devorar tan elevado número de presas. Cuando se analiza la gráfica desde la presa 1 hasta la 30, se observa que el tiempo de búsqueda fue aumentando ligeramente. Ello probablemente se debió a que a medida que disminuye el número de presas, al ser consumidas y no repuestas, la probabilidad de nuevos encuentros fue disminuyendo (Figura 4).

Tabla 4. Valores medios del tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) utilizado por larvas de tercer estadio de *C. externa* según densidad de ninfas grandes de *D. citri* (estadios III, IV y V) obtenidos por observación (en minutos).

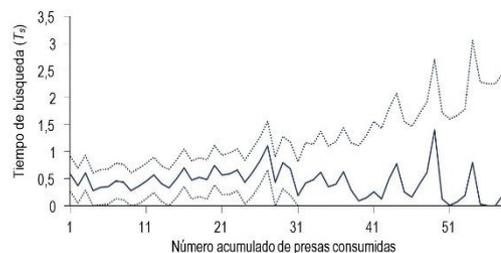
Densidad de presas	Estimaciones (en minutos)			
	Media	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald	
			Inferior	Superior
25	0,8301 <sup>a</sup>	0,08280	0,6678	0,9924
50	0,5436 <sup>b</sup>	0,08469	0,3776	0,7096
75	0,4979 <sup>b</sup>	0,07763	0,3457	0,6500
100	0,4056 <sup>b</sup>	0,07818	0,2524	0,5588
125	0,3079 <sup>b</sup>	0,09777	0,1162	0,4995

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas a  $p = 0,05$  (valor para la comparación por pares: Chi-cuadrado de Wald = 21,012; g.l. = 4,  $P < 0,001$ ).

Figura 4. Valores medios del tiempo de búsqueda ( $T_s$ ) (en línea continua) (en minutos) y límites de confianza a  $p = 0,05$  (en línea de puntos), utilizado por larvas de tercer estadio de *C. externa* según número acumulado de ninfas de grandes de *D. citri* consumidas. Valores obtenidos por



observación.



### 3.3.2 Tiempo de manipulación ( $T_h$ ):

El tiempo de manipulación ( $T_h$ ) de las presas por parte de *C. externa* presentó variación durante el ensayo (Prueba ómnibus, que compara el modelo ajustado con el modelo de sólo intersección, originó una Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 376,503, g.l. = 198,  $p < 0,0001$ ). Es así que se comprobó un efecto sobre  $T_h$  de la densidad de presas ofertadas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 21,496, g.l. = 4,  $p < 0,0001$ ), del número acumulado de presas consumidas (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 195,962, g.l. = 57,  $p < 0,0001$ ), pero no de su interacción (Chi-cuadrado de la razón de verosimilitud = 149,716, g.l. = 137,  $p = 0,216$ ). El valor medio del  $T_h$  ( $1,040 \pm 0,081$ ) para la densidad de 100 presas ofertadas fue mayor que el  $T_h$  del resto de las densidades estudiadas (Tabla 5).

Según el número acumulado de presas consumidas,  $T_h$  disminuye hasta la presa 31. De la primera a la tercera presa el tiempo de manipulación (en minutos) fue  $2,87 \pm 0,17$ ,  $2,69 \pm 0,17$ ,  $2,30 \pm 0,17$  respectivamente. Desde la cuarta hasta la onceava presa el tiempo varió de 2' a 1,5' y a partir de ésta hasta el 31  $T_h$  presentó valores entre 1 y 1,5'. Con el consumo de un mayor número de presas, los valores de  $T_h$  se hacen más variables debido, probablemente, al menor número de depredadores que capturaron más de 31 presas (indicado por la amplitud de los

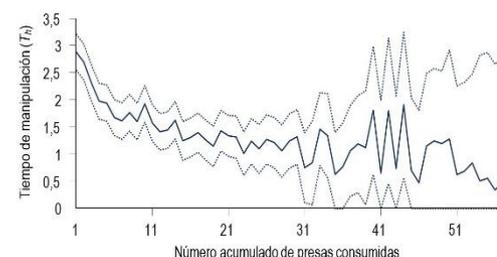
límites de confianza) (Figura 5).

Tabla 5: Valores medios del Tiempo de manipulación ( $T_h$ ) empleado por larvas de tercer estadio de *C. externa* según densidad de ninfas grandes de *D. citri*, obtenidos por observación (en minutos).

Densidad de presas	Estimaciones			
	Media	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald	
			Inferior	Superior
25	1,5929 <sup>a</sup>	0,08524	1,4258	1,7599
50	1,6051 <sup>a</sup>	0,08719	1,4342	1,7760
75	1,3784 <sup>a</sup>	0,07992	1,2218	1,5350
100	1,0403 <sup>b</sup>	0,08049	0,8826	1,1981
125	1,6639 <sup>a</sup>	0,10065	1,4666	1,8612

Valores seguidos por la misma letra no presentan diferencias significativas a  $p = 0,05$  (valor para la comparación por pares: Chi-cuadrado de Wald = 36,936; g.l. = 4,  $p < 0,001$ ).

Figura 5. Valores medios del tiempo de manipulación ( $T_h$ ) (en línea continua) (en minutos) y límites de confianza a  $p = 0,05$  (en línea de puntos), utilizados por larvas de tercer estadio de *C. externa* según número acumulado de presas consumidas (ninfas grandes de *D. citri*), obtenidos por observación.



## 4. Discusión

El consumo de todos los tamaños de *D. citri* ofertados en este estudio por parte de larvas del tercer estadio de *C. externa* fue coincidente con lo señalado por Pacheco-Rueda et al.<sup>(12)</sup> para esta especie y Palomares-Pérez et al.<sup>(47)</sup> y Goldmann<sup>(48)</sup> para otras especies de la familia Chrysopidae como enemigos naturales de este psílido. Las diferencias en el consumo de huevos, ninfas y adultos en condiciones de "no elección" de presas estarían relacionadas con el tamaño de las mismas, que afecta el tiempo de consumo<sup>(34)</sup> e influyen en el éxito de la depredación a



través de la relación entre el tamaño del depredador y la presa<sup>(49)</sup>. La disminución encontrada en el número de presas depredadas con el aumento del tamaño de las mismas (fruto que se requiere menos individuos para cubrir los requerimientos del depredador), coincide con lo observado por otros autores para el segundo estadio larval de *C. rufilabris* y *C. comanche* cuando fueron alimentadas con huevos y ninfas chicas y grandes de *D. citri* durante una hora<sup>(50)</sup>. Asimismo, Goldmann<sup>(48)</sup> encontró resultados similares a este estudio, cuando evaluó todos los estadios del *D. citri* como presas con los tres estadios larvales de *C. comanche* durante el mismo período de tiempo que este estudio.

El mayor consumo de huevos podría estar explicado por su menor tamaño e inmovilidad, lo cual facilita su manipulación y, con ello, se reduce el tiempo de consumo por presa. Por su parte las ninfas, al ser móviles y ejercer cierta resistencia a ser atacadas por depredadores, resultan menos consumidas que los huevos<sup>(51)</sup>.

En acuerdo con Pacheco-Rueda et al. <sup>(12)</sup>, no se encontraron diferencias en el consumo de distintos tamaños de ninfas de *D. citri* en condiciones de no elección. No se confirmó un mayor consumo de ninfas chicas (estadios I y II) (con esbozos alares poco desarrollados lo que las hace más fáciles de manejar por el depredador) frente a las ninfas grandes (estadios III, IV y V) que poseen alas más desarrolladas y el tiempo de manipulación aumenta, como lo señalan Khan et al.<sup>(51)</sup>.

El menor consumo de adultos posiblemente estuvo influido por la presencia en éstos de alas completamente desarrolladas y funcionales al vuelo<sup>(52)</sup>. Esto les otorga mayor capacidad de escape de un depredador y, en caso de ser capturados, el tiempo de manipulación es

mayor. Hay que destacar que este estudio es el primer registro de la tasa de consumo de *C. externa* sobre adultos de *D. citri*. Si bien los adultos fueron menos consumidos que otros tamaños de presa, es particularmente importante este hallazgo dado que *D. citri* pasa el invierno como adulto<sup>(53)(54)</sup> y es frecuente encontrar este crisópido en cítricos en Uruguay en dicho momento del año<sup>(55)</sup>.

La preferencia por los tamaños intermedios de *D. citri* comprobada en el estudio “con elección” de presa, podría estar explicada por la baja eficiencia que se produce al alimentarse de presas excesivamente grandes, debido a limitantes físicas, y por los reducidos valores nutricionales de las presas pequeñas <sup>(22)(56)</sup>. Cuando las presas son grandes con respecto al depredador, el tiempo de manipulación (perseguir, someter, ingerir y digerir el recurso) es mayor que en el caso inverso<sup>(22)</sup> y el éxito de captura es bajo<sup>(57)</sup>. En resumen, la capacidad de defensa, el tamaño proporcional a la presa y la movilidad afectan directamente el ataque o la preferencia por las presas de parte de *C. externa* <sup>(11)</sup>.

Si bien los huevos del psílido fueron los más consumidos en condiciones de “no elección”, cuando *C. externa* tuvo posibilidad de elegir no los prefirió. Esto podría estar explicado por su reducido tamaño e inmovilidad que los hace más difícil de detectar visualmente<sup>(58)</sup>, en compensación con la vulnerabilidad por su situación inerte para reaccionar frente a un depredador, señalado precedentemente por otros autores. Similar situación se alcanzó con *C. carnea*, cuando se le ofreció simultáneamente larvas y huevos de *Pieris brassicae* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pieridae). Su larva de tercer estadio prefirió las primeras, probablemente debido a la inmovilidad de los huevos<sup>(59)</sup>. Por otro lado,



alimentarse de presas más grandes es más eficiente debido a que se alcanza el nivel de saciedad con menor número de individuos que cuando la presa es pequeña<sup>(34)</sup>.

Ninfas chicas fueron preferidas únicamente cuando fueron ofrecidas conjuntamente con huevos. Si bien la diferencia de tamaño no es tan marcada, sobre todo con el primer estadio<sup>(52)</sup>, es distinta su movilidad, lo cual puede favorecer la detección visual de la presa. También puede contribuir en la elección la producción de mielecilla por parte de las ninfas. Hay que tener en cuenta que los mayores componentes de la mielecilla son sacarosa, D-fructosa, manosa, trehalosa, myo-inositol, galactosa, ácido málico y ácido quínico<sup>(60)</sup>. Además de los azúcares, contiene una capa delgada de cera similar a la de abejas y otros ésteres de cera<sup>(61)</sup>. Esta fuente rica en carbohidratos es utilizada como complemento nutricional en dietas de enemigos naturales como crisópidos, coccinélidos y parasitoides<sup>(62)(63)(64)(65)</sup>, estimula la oviposición, incrementa la sobrevivencia y fecundidad<sup>(66)(67)</sup>. Hogervorst et al.,<sup>(64)</sup> demostraron que larvas de otra especie de este mismo género (*C. carnea*) utilizan mielecilla producida por áfidos como fuente de alimento, incluso cuando posee presas de alta calidad nutricional disponibles *ad-libitum*. Sin embargo, si bien los crisópidos son insectos omnívoros, no pueden completar su desarrollo larval si se alimentan únicamente de mielecilla, debido a que el tipo de aminoácidos y sus concentraciones no son suficientes, por lo que es necesario el consumo de presas<sup>(68)</sup>.

Por otra parte, señales químicas emitidas por presas, como es el caso de volátiles presentes en la mielecilla, son importantes para asegurar el encuentro depredador-

presa (aumentan su eficiencia de búsqueda). Para ello contribuyen receptores sensoriales ubicados en los extremos de los palpos labiales y en las antenas del depredador que permiten reconocer químicamente a la presa cuando la encuentra<sup>(34)</sup>. Las larvas de crisópidos poseen la habilidad de aprender la asociación entre volátiles y la presencia de alimento<sup>(68)</sup>. Particularmente, cuando éstas presentan distribución agregada<sup>(69)</sup>, como es el caso de *D. citri*, lo cual favorece la permanencia del depredador en el hábitat<sup>(70)(62)</sup>.

La falta de preferencia entre ninfas chicas y grandes es coincidente con el consumo observado en el ensayo "sin elección", cuando dispusieron por separado de ambos tamaños. La preferencia por ninfas grandes frente a huevos y adultos podría estar asociado a la movilidad, la producción de mielecilla, al grado de desarrollo de las alas y a diferencias de tamaños.

El comportamiento observado por las larvas de tercer estadio de *C. externa*, cuando se alimentaron de ninfas grandes (III, IV y V) de *D. citri*, se ajustó a la respuesta funcional del tipo II. Este es el tipo de respuesta funcional más común en insectos<sup>(72)(43)</sup>, particularmente en depredadores que se alimentan de presas inestables, e implica una rápida utilización del alimento por parte del depredador<sup>(73)</sup>. A medida que aumentó la densidad del psílido, el consumo de *C. externa* se incrementó en forma decreciente hasta alcanzar un valor asintótico equivalente a la densidad de saturación, a partir de la cual aumentó la probabilidad de escape de las presas. Esto se explica porque al aumentar la densidad de presas el tiempo dedicado a localizarlas disminuye, pero el tiempo de manipulación por parte del depredador se va incrementando<sup>(23)</sup>.



Resultados similares fueron reportados para este depredador con otras presas, como los pulgones *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae)<sup>(74)</sup>, *Aphis gossypii* (Glover)<sup>(75)</sup>, *Melanaphis sacchari* (Zehntner)<sup>(76)</sup> y las moscas blancas *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae)<sup>(77)</sup>. Asimismo, se ha observado este comportamiento en otros crisópidos, como *C. carnea* cuando se alimentó de *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae)<sup>(78)</sup>, *Hyalopterus pruni* (Geoffroy) (Hemiptera: Aphididae)<sup>(79)</sup>, *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae)<sup>(80)</sup>, *T. vaporariorum*<sup>(81)</sup> y *C. caligata* cuando depredó *Raoiella indica* (Hirst) (Acari: Tenuipalpidae)<sup>(27)</sup>. También se ha constatado este tipo de respuesta funcional en el ectoparásitoide *T. radiata*<sup>(82)(83)(84)</sup> y el depredador *H. axyridis*<sup>(85)</sup> cuando la presa fue *D. citri*.

Este tipo de respuesta funcional tiende a desestabilizar la interacción depredador-presa cuando la densidad de esta última se encuentra por debajo del punto de saturación, es decir, puede conducir a la extinción de la presa<sup>(86)</sup>. En estas condiciones, la proporción de presas consumidas es alta, lo cual es promisorio en programas de control biológico aumentativo (inundativo)<sup>(73)</sup>. El objetivo de esta técnica es la reducción directa de la plaga en determinado momento, a diferencia del control biológico completo en el cual se apunta a un control permanente<sup>(87)</sup>. Para esta última situación son preferibles los depredadores con respuesta funcional tipo III, que son teóricamente más capaces de regular las poblaciones de sus presas<sup>(88)(25)</sup>. Es por ello que, en función de la respuesta funcional determinada en este estudio, *C. externa* podría ser un eficaz agente de control biológico de *D. citri*, incluso cuando ésta se encuentra a bajas densidades poblacionales.

Las larvas de tercer estadio de *C. externa* presentaron mayor coeficiente de ataque ( $a'$ ) ( $2,5356 \pm 2,1114$ ) y menor tiempo de manipulación ( $T_h$ ) ( $0,0012 \pm 0,002$ ) cuando se alimentaron con ninfas de *D. citri*, comparado con los valores señalados por Castro et al.<sup>(77)</sup> referidos al consumo de ninfas de *T. vaporariorum* ( $a' = 0,097$  y  $T_h = 0,062$ ) y por Palomares-Pérez et al.<sup>(76)</sup> cuando la presa fue *M. sacchari* ( $a' = 0,0065$  y  $T_h = 1,0132$ ). Por otra parte, otros enemigos naturales comúnmente asociados a *D. citri*, como son *H. axyridis*<sup>(85)</sup> y *T. radiata*<sup>(82)</sup>, presentaron menores coeficientes de ataque y tiempos mayores de manipulación que los obtenidos en este estudio.

La tasa de ataque o eficiencia de búsqueda y el tiempo de manipulación son indicadores de la potencialidad de un enemigo natural<sup>(72)</sup>. El coeficiente de ataque depende de la distancia reactiva entre el depredador y la presa, del éxito de captura y la velocidad de movimiento de ambos<sup>(22)</sup>. En el tiempo de manipulación influyen la movilidad de la presa y del depredador, así como el tiempo requerido para someter a la presa una vez capturada<sup>(43)</sup>. Entomófagos con alto coeficiente de ataque y bajo tiempo de manipulación son considerados agentes promisorios como controladores biológicos<sup>(89)</sup>. Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio podrían sugerir una mayor eficacia de *C. externa* cuando se alimenta de *D. citri* que de las otras presas antes mencionadas, y superior que *H. axyridis* y *T. radiata* cuando consumen a esa misma presa.

El mayor tiempo de búsqueda constatado por observación a baja densidad de presas, comparado con lo que sucedió a densidades más altas de presas, pudo deberse a que en esta última situación las probabilidades de encuentros depredador-



presa son mayores y, fruto de ello, disminuyó el tiempo necesario para encontrarlas. Los modelos de respuesta funcional asumen que el incremento de la tasa de captura es lineal con el aumento de la densidad<sup>(90)</sup>. No obstante, en trabajos en los cuales el tiempo de búsqueda es evaluado por observación, se ha demostrado que este incremento es menor que el aumento de la densidad de presa<sup>(90)</sup>. Mols et al.<sup>(91)</sup> encontraron resultados similares y atribuyeron este comportamiento al agotamiento de presas. Esto último podría explicar por qué se observó una tendencia al aumento del tiempo de búsqueda asociado al número acumulado de presas consumidas. A medida que este número aumenta, y al no haber reposición, se da un agotamiento de presas y por tanto disminuye la captura de presas.

La comprobación de la reducción del tiempo de búsqueda de *C. externa* con el aumento de la densidad de *D. citri* evidenciada en este estudio, coincide con lo demostrado por varios autores (por ejemplo, Okuyama<sup>(92)</sup>, Collins et al.<sup>(31)</sup>, Giller<sup>(93)</sup>, Cook y Cockrell<sup>(94)</sup>). Se confirma así, el efecto de este mecanismo adaptativo para maximizar la tasa de ingesta energética dentro de la estrategia de forrajeo óptimo<sup>(94)</sup>.

Por su parte, a bajas densidades el mayor tiempo de manipulación puede deberse a la necesidad de extraer todos los nutrientes disponibles en cada presa, así como la falta de aprendizaje. Los depredadores pueden maximizar su capacidad de búsqueda y manipulación de presas al aprender cómo aumentar el grado de rapiña<sup>(81)</sup>. Si bien esta respuesta adaptativa puede estar relacionada a limitaciones intestinales y nivel de hambre de los depredadores<sup>(92)</sup>, es probable que el tiempo de manipulación no esté gobernado solo por un factor

dominante<sup>(95)</sup>. Por lo tanto, deben tenerse en cuenta comportamientos característicos de las especies al examinar la respuesta funcional, sobre la base que el tiempo de manipulación adaptable puede ser un factor importante que contribuya a la estabilidad de las comunidades ecológicas<sup>(92)</sup>.

El éxito o fracaso de un programa de control biológico no puede atribuirse únicamente a la respuesta funcional del controlador utilizado. Otros factores pueden contribuir a los resultados, como el momento y la forma de liberación, calidad y dosis del enemigo natural, así como las condiciones climáticas. Además, al momento de seleccionar un agente de control biológico deben considerarse aspectos como interacciones entre individuos y entre especies en condiciones naturales<sup>(96)(97)</sup>. No obstante, la respuesta funcional es un conocimiento comúnmente utilizado para estimar la potencialidad de uso de un enemigo natural en el control de una plaga<sup>(27)</sup>.

## 5. Conclusiones

*Chrysoperla externa* es un depredador voraz, que se alimenta de todos los tamaños de *D. citri*. El consumo es mayor con presas pequeñas y, cuando puede optar, prefiere tamaños intermedios. Cuando se alimenta del psílido asiático de los cítricos su comportamiento se ajusta a una respuesta funcional del tipo II, es decir, es un depredador eficiente a bajas densidades de presa. Asimismo, posee alta eficiencia de búsqueda y bajo tiempo de manipulación con respecto a otros enemigos naturales de esta plaga, lo que lo posiciona como un agente de control biológico promisorio en métodos aumentativos o de conservación.



### Declaración de contribución del autor

EP, TC y CB pensaron y diseñaron las investigaciones. EP realizó los experimentos; CB y TC apoyaron con herramientas analíticas. TC realizó los análisis estadísticos; EP escribió la primera versión del manuscrito. Todos los autores leyeron, comentaron y aprobaron el manuscrito.

### Bibliografía

1. Álvarez S, Rohrig E, Solís D, Thomas MH. Citrus greening disease (Huanglongbing) in Florida: economic impact, management and the potential for biological control. *Agric Res.* 2016;5(2),109-118. doi:<https://doi.org/10.1007/s40003-016-0204-z>
2. Gottwald TR, Graça JVD, Bassanezi RB. Citrus huanglongbing: the pathogen and its impact. *Plant Health Prog.* 2007;8(1), 31. doi: <https://doi.org/10.1094/PHP-2007-0906-01-RV>
3. Bové JM. Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. *J Plant Path.* 2006;87(1):7-37.
4. Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA. 2005. Manual de fitopatología. São Paulo: Agronômica Ceres. Vol. 2, 651 p
5. Asplanato G, Pazos J, Buenahora J, Amuedo S, Rubio L, Franco J. El psílido asiático de los cítricos, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae): Primeros estudios bioecológicos en Uruguay. 2011. Montevideo, INIA Serie FPTA 28, 48p.
6. Pérez E, Bertalmío A, Buenahora J, Otero A, Maeso D, Rivas F. El HLB: una enfermedad que amenaza la citricultura de Uruguay. 2019. Revista INIA N° 56, 70-74. Disponible en: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Paginas/publicacionAINFO-59680.aspx>
7. Outi Y, Cortese P, Santinoni L, Palma L, Agostini J, y Preusler C. HLB in Argentina: a New Disease Outbreak. *J Citrus Pathol.* 2014;1: 82.
8. Coletta-Filho HD, Targon MLPN, Takita MA, De Negri JD, Pompeu Jr J, Machado MA., do Amaral AM, Muller GW. First report of the causal agent of Huanglongbing (“*Candidatus Liberibacter asiaticus*”) in Brazil. *Plant Dis.* 2004;88(12), 1382-1382. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.12.1382C>
9. SENA VE (Servicio Nacional de Calidad y Sanidad Vegetal y de Semillas, Paraguay). 2017. HLB EN PARAGUAY. Experiencias en la Gestión Nacional. Disponible en: <http://web.senave.gov.py:8081/docs/libros/Libro%20HLB%202017.pdf>
10. Grafton-Cardwell EE, Stelinski LL, Stansly PA. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. *Annu Rev Entomol.* 2013;58, 413–432. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153542>
11. Orr D. Biological Control and Integrated Pest Management. En: Peshin R, Shawan AK, editors. *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process.* Dordrecht: Springer; 2009. p. 207-239. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8992-3_9)
12. Pacheco-Rueda I, Lomeli-Flores JR, López-Arroyo JI, González-Hernández H, Romero-Nápoles J, Santillán-Galicia MT, Suárez-Espinosa J. Preferencia de tamaño de presa en seis especies de



- Chrysopidae (Neuroptera) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). Rev Colomb Entomol. 2015; 41(2), 187-193.
13. Janduí SJ, Bezerra-do Nascimento AR, Da Silva MV. Informações sobre *Chrysoperla externa* (Campina Grande). 2007. Embrapa Algodão. Documentos 175, 1ª impresión. Disponible en: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPA/21100/1/DOC175.PDF>
  14. Haramboure M, Francesena N, Reboredo GR, Smaghe G, Alzogaray RA, Schneider MI. Toxicity of cypermethrin on the neotropical lacewing *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). Commun Agric Appl Biol Sci. 2013;78(2), 339-344.
  15. Pitwak J, Ayres Oliveira Menezes J, Ventura MU. Preferencia, desarrollo y desempeño reproductivo de *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) utilizando presas provenientes de trigo. Rev Colomb Entomol. 2016;42(2), 118-124. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-04882016000200003&script=sci\\_artext&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-04882016000200003&script=sci_artext&tlng=en)
  16. Salamanca J, Devia EHV, Amaya OS. Cría y evaluación de la capacidad de depredación de *Chrysoperla externa* sobre *Neohydatothrips signifer*, trips plaga del cultivo de maracuyá. Corpoica Cienc Tecnol Agrop. 2010;11(1), 31-40.
  17. Giffoni J, Valera N, Díaz F, Vásquez C. Ciclo biológico de *Chrysoperla externa* (hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada con diferentes presas. 2007. Nota técnica. Bioagro, 19(2), 109-113. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612007000200007&script=sci\\_artext&tlng=pt](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1316-33612007000200007&script=sci_artext&tlng=pt)
  18. Chailleux A, Bearez P, Pizzol J, Amiens-Desneux E, Ramirez-Romero R, Desneux N. Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. J Pest Sci. 2013;86(3), 533-541. doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-013-0498-6>
  19. Venzon M, Janssen A, Sabelis MW. Prey preference and reproductive success of the generalist predator *Orius laevigatus*. Oikos. 2002;97:116-124. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.970112.x>
  20. Eubanks MD, Denno RF. Health food versus fast food: the effects of prey quality and mobility on prey selection by a generalist predator and indirect interactions among prey species. Ecol Entomol. 2000;25(2), 140-146. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2000.00243.x>
  21. Guershon M, Gerling D. Predatory behavior of *Delphastus pusillus* in relation to the phenotypic plasticity of *Bemisia tabaci* nymphs. Entomol Exp Appl. 1999;92(3), 239-248. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00543.x>
  22. Brose U. Body-mass constraints on foraging behaviour determine population and food-web dynamics. Funct Ecol. 2010;24(1), 28-34. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2009.01618.x>
  23. Juliano S. 1993. Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. En: Scheiner S, Gurevitch J. (eds). Design and analysis of ecological



- experiments (pp. 178-196). Chapman & Hall.
24. Holling CS. The functional response of invertebrate predators to prey density. *Mem Entomol Soc Can.* 1966;98, 5-86.
25. Holling CS. The Functional Response of Predators to Prey Density and its Role in Mimicry and Population Regulation. *Mem Entomol Soc Can.* 1965;97(45), 5-60. doi: <https://doi.org/10.4039/entm9745fv>
26. García J, Benítez E, López A. Efecto de la densidad de población de *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) sobre la eficiencia del depredador *Delphastus pusillus* (Coleoptera: Coccinellidae). *Corpoica Cienc Tecnol Agropec.* 2007;8 (2), 17-21. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=449945023002>
27. Jumbo LOV, Teodoro AV, Rêgo AS, Haddi K, Galvão AS, de Oliveira EE. The lacewing *Ceraeochrysa caligata* as a potential biological agent for controlling the red palm mite *Raoiella indica*. *Zool Sci.* 2019;7, e7123. doi: <https://doi.org/10.7717/peerj.7123>
28. Milonas PG, Kontodimas DC, Martinou AF. A predator's functional response: influence of prey species and size. *Biol Control.* 2011;59(2), 141-146. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.06.016>
29. Begon M, Harper JL, Townsend CR. *Ecology: Individuals, populations and communities.* Milan: Blackwell Science;1996. p.346-351.
30. Palomares-Pérez M, Barajas-Romero MI, Arredondo-Bernal HC. Producción masiva de *Ceraeochrysa valida* (Banks) (Neuroptera: Chrysopidae) a 30 °C. *Chil J Agric Anim Sci.* 2017;33:187-191. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902017005000504>
31. Collins MD, Ward SA, Dixon AFG. Handling time and the functional response of *Aphelinus thomsoni*, a predator and parasite of the aphid *Drepanosiphum platanoidis*. *J Anim Ecol.* 1981;479-487. doi: <https://doi.org/10.2307/4069>
32. Costa SS, Broglio SM, Dias-Pini NS, Santos DS, Santos JM, Duque FJ, Saraiva WV. Developmental biology and functional responses of *Leucochrysa (Nodita) azevedoi* fed with different prey. *Biocontrol Sci Technol.* 2020;30(1), 42-50. doi: <https://doi.org/10.1080/09583157.2019.1687644>
33. Maselou D, Perdakis D, Fantinou A. Effect of hunger level on prey consumption and functional response of the predator *Macrolophus pygmaeus*. *Bull Insectology.* 2015;68(2), 211-218.
34. Albuquerque GS, Tauber CA, Tauber MJ. Green lacewing (Neuroptera: Chrysopidae): predatory lifestyle. En: Panizzi RA, Parra JRP, editors. *Insect Bioecology and Nutrition for Integrated Pest Management.* Boca Ratón, CRC Press; 2012. p. 594-630.
35. Cardoso JT, Lazzari SMN. Development and consumption capacity of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera, Chrysopidae) fed with *Cinara spp.* (Hemiptera, Aphididae) under three temperatures. *Rev Bras Zool.* 2003;20, 573-576. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-81752003000400002>.
36. Wajnberg É, Haccou P. 2008. Statistical tools for analyzing data in behavioral ecology of insect parasitoids. En: Wajnberg É, Bernstein C, van Alphen J (eds). *Behavioral Ecology of Insect*



- Parasitoids: from Theoretical Approaches to Field Applications (pp. 402-429). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. Bell.
37. Hulbert SH. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological monographs*, 1984; 54(2), 187-211.
38. Agrestis A. Foundations of linear and generalized linear models. 2015. Hoboken: Wiley. 444p.
39. Turlings TC, Davison AC, Tamó C. A six-arm olfactometer permitting simultaneous observation of insect attraction and odour trapping. *Physiol Entomol.* 2004;29(1), 45-55.
40. Manly BFJ. Tables for the analysis of selective predation experiments. *Res Popul Ecol.* 1972;14, 74-81.
41. IBM Corp. 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.
42. Statgraphics. 2010. Statgraphics Centurion XVI User Manual. StatPoint Technologies, Inc.
43. Hassell, M. Arthropod predator-prey systems. 1978. New Jersey: Princeton University Press. 248p.
44. Cabello T, Gámez M, Varga Z. An improvement of the Holling type III functional response in entomophagous species model. *J Biol Syst.* 2007;15(4), 515-524. doi: <https://doi.org/10.1142/S0218339007002325>
45. Jandel Scientific. 1994. Table Curve 2D User's Manual. Versión 2.0. Jandel Scientific.
46. Motulsky H, Christopoulos A. 2003. Fitting models to biological data using linear and nonlinear regression: a practical guide to curve fitting. GraphPad Software, Inc.
47. Palomares-Pérez M, Ayala-Zermeño MA, Rodríguez-Vélez B, de la Cruz-Llanas JDJ, Sánchez-González JA, Arredondo-Bernal HC, Córdoba-Urtiz EG. Abundancia y depredación de *Ceraeochrysa valida* (Neuroptera: Chrysopidae) sobre *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) en Colima, México. *Chil J Agric Anim Sci.* 2016;32(3), 234-243. doi: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902016005000008>
48. Goldmann A. Predators of Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) in Southern California Tesis Doctoral. University of California, Riverside, EEUU. 2017. 218p.
49. Dean DE, Shuster DJ. *Bemisia argentifolli* (Homoptera: Aleyrodidae) and *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphididae) as Prey for Two Species of Chrysopidae. *Environ. Entomol.* 1995;24(6), 1562-1568. doi: <https://doi.org/10.1093/ee/24.6.1562>
50. Cortez-Mondaca E, López-Arroyo JI, Rodríguez-Ruiz L, Partida-Valenzuela MP, Pérez-Márquez J, González-Calderón VM. Capacidad de depredación de especies de Chrysopidae asociadas a *Diaphorina citri* Kuwayama en los cítricos de Sinaloa, México. En: 2º Simposio Nacional sobre investigación para el manejo del Psílido Asiático de los Cítricos y el Huanglongbing en México. Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 5 y 6 de diciembre de 2011.p. 323-333.
51. Khan AA, Qureshi JA, Afzal M, Stansly PA. Two - Spotted Ladybeetle *Adalia bipunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae): A Commercially Available Predator to Control Asian Citrus Psyllid *Diaphorina citri*



- (Hemiptera: Liviidae). PLoS ONE. 2016;11(9): e0162843. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162843>
52. Tsai JH, Liu YH. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants. J Econ Entomol. 2000;93(6), 1721-1725. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/0022-0493-93.6.1721>
  53. Amuedo S. Abundancia y agregación de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). Tesis Maestría. Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay. 2011. 70p.
  54. Yang Y, Huang MC, Beattie GA, Xia Y, Ouyang G, Xiong J. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: a status report for China. Int J Pest Manag. 2006;52(4), 343-352. doi: <https://doi.org/10.1080/09670870600872994>
  55. Pechi E, Aguirre A, Cáceres S, Asplanato G. Identificación y análisis faunístico de enemigos naturales asociados a *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). 2016. Serie de actividades de difusión N° 769, Salto, Uruguay: INIA Salto Grande. 44p.
  56. Pastorok RA. Prey vulnerability and size selection by *Chaoborus* larvae. Ecology. 1981;62(5), 1311-1324. doi: <https://doi.org/10.2307/1937295>
  57. Brose U, Ehnes RB, Rall BC, Vucic-Pestic O, Berlow EL, Scheu S. Foraging theory predicts predator-prey energy fluxes. J Anim Ecol. 2008;77(5), 1072-1078.
  58. Sherestha G, Enkengaard A. The green lacewing, *Chrysoperla carnea*: Preference between lettuce aphids, *Nasonovia ribisnigri*, and western flower thrips, *Fankliniella occidentalis*. J Insect Sci. 2013;13(94), 1-10.
  59. Huang CH, Enkergaard A. Predation capacity and prey preference of *Chrysoperla carnea* on *Pieris brassicae*. BioControl. 2010;55 (3), 379-385. doi: <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9254-5>
  60. Killiny N, Hijaz F. Honeydew sugar composition of the phloem sap feeder, the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on citrus host plant. En: Annual Meeting of the Entomological Society of America. Knoxville, Tennessee, EE. UU, 10-15 de noviembre de 2012. (Abstract)
  61. Ammar ED, Alessandro R, Shatters Jr RG, Hall DG. Behavioral, ultrastructural and chemical studies on the honeydew and waxy secretions by nymphs and adults of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). PLoS One. 2013;8(6), e64938. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064938>
  62. Purandare SR, Tenhumberg B. Influence of aphid honeydew on the foraging behaviour of *Hippodamia convergens* larvae. Ecol Entomol. 2012;37(3), 184-192. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.2012.01351.x>
  63. Lundgren JG. Nutritional aspects of non-prey foods in the life histories of predaceous Coccinellidae. Biol Control. 2009;51(2), 294-305. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2009.05.016>
  64. Hogervorst PA, Wäckers FL, Carette AC, Romeis J. The importance of honeydew as food for larvae of *Chrysoperla carnea* in the presence of aphids. J Appl Entomol. 2008;132(1), 18-25. doi:



- <https://doi.org/10.1111/5.1439-0418.2007.01247x>
65. Mehrnejad MR, Copland MJ. Behavioral responses of the parasitoid *Psyllaephagus pistaciae* (Hymenoptera: Encyrtidae) to host plant volatiles and honeydew. *Entomol sci.* 2006;9(1), 31-37. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2006.00151.x>
66. Kishinevsky M, Cohen N, Chiel E, Wajnberg E, Keasar T. Sugar feeding of parasitoids in an agroecosystem: effects of community composition, habitat and vegetation. *Insect Conserv Divers.* 2018;11(1), 50-57. doi: <https://doi.org/10.1111/icad.12259>
67. Tena A, Pekas A, Waeckers FL, Urbaneja A. Energy reserves of parasitoids depend on honeydew from non-hosts. *Ecol Entomol.* 2013;38(3), 278-289. doi: <https://doi.org/10.1111/een.12018>
68. Limburg DD, Rosenheim JA. Extrafloral nectar consumption and its influence on survival and development of an omnivorous predator, larval *Chrysoperla plorabunda* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ Entomol.* 2001;30(3), 595-604. doi: <https://doi.org/10.1603/0046-225X-30.3.595>
69. Costa MG, Barbosa JC, Yamamoto PT, Leal RM. 2010. Spatial distribution of *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) in citrus orchards. *Scientia Agricola*, 67(5), 546-554. doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-90162010000500008>
70. de Oliveira CM, Pallini A, Bernardo AMG, Veiga VR, de Brito LAR, Venzon M, de Lima ER, Janssen A. Associative learning in immature lacewings (*Ceraeochrysa cubana*). *Entomol Exp Appl.* 2019;167, 772-782. doi: <https://doi.org/10.1111/eea.12821>
71. Leroy PD, Almohamad R, Attia S, Capella Q, Verheggen FJ, Haubruge E, Francis F. Aphid honeydew: An arrestant and a contact kairomone for *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae) larvae and adults. *Eur J Entomol.* 2014;111(2). doi: <https://doi.org/10.14411/eje.2014.028>
72. Holling C. Some characteristics of simple types of predation and parasitism. *Can Entomol.* 1959;91, 85-398.
73. Nordlund DA, Morrison RK. Handling time, prey preference, and functional response for *Chrysoperla rufilabris* in the laboratory. *Entomol Exp Appl.* 1990;57(3), 237-242. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01435.x>
74. Fonseca AR, Carvalho CF, Souza B. Resposta Funcional de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) Alimentada com *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hemiptera: Aphididae). *An Soc Entomol Brasil.* 2000; 29 (2), 309-317. doi: <https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000200013>
75. Dos Santos TM, Júnior ALB, Barbosa JC. Resposta funcional de *Chrysoperla externa* a *Aphis gossypii* em cultivares de algodoeiro. *Man Integ Plagas y Agroeco.* 2005;74, 41-47.
76. Palomares-Pérez M, Bravo-Núñez M, Arredondo-Bernal HC. Functional Response of *Chrysoperla externa* (Hagen 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) Fed with *Melanaphis sacchari* (Zehntner 1897) (Hemiptera: Aphididae). *Proc Entomol Soc Wash;* 2019, 121(2), 256-264. doi: <https://doi.org/10.4289/0013->



- [8797.121.2.256](http://dx.doi.org/10.22267/rcia.163302.51)
77. Castro MA, Martinez JW, Dotor MY. Evaluación del efecto regulador de *Chrysoperla externa* sobre mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* en tomate. Rev Cien Agr. 2016;33 (2), 43-54. doi: <http://dx.doi.org/10.22267/rcia.163302.51>
78. Mahzoum AM, Villa M, Benhadi-Marín J, Pereira JA. Functional Response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) Larvae on *Saissetia oleae* (Olivier) (Hemiptera: Coccidae): Implications for Biological Control. Agronomy. 2020;10(10): 1511. doi: <https://10.3390/agronomy10101511>
79. Atlıhan R, Kaydan BORA, Özgökçe MS. Feeding activity and life history characteristics of the generalist predator, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) at different prey densities. J Pest Sci. 2004;77(1), 17-21.
80. Ail-Catzim C, Cerna E, Landeros J, Aguirre L, Flores M, Badii-Zabeh M, Ochoa-Fuentes Y. Respuesta funcional de diferentes instares larvales de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Homoptera: Psyllidae). Rev Fca Uncuyo. 2012;44(2), 279-288. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382837651005>
81. Landeros JL, Guevara LP., Aguirre LA, Cerna E, Badii MH, Ochoa YM. Functional response of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) eggs. Southwest Entomol. 2013;38(2), 345-352. doi: <http://dx.doi.org/10.3958/059.038.0217>
82. Chen X, Wong SW, Stansly PA. Functional Response of *Tamarixia radiata* (Hymenoptera: Eulophidae) to Densities of Its Host, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psylloidea). Ann Entomol Soc Am. 2016;109(3), 432-437. doi: <https://doi.org/10.1093/aesa/saw018>
83. Baños Díaz HL, Miranda Cabrera I, Martínez MA, Ramírez S, Sánchez Castro A. Respuesta numérica y funcional de *Tamarixia radiata* Waterston 1922 (Hymenoptera: Eulophidae) a diferentes densidades de ninfas de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae). Entomotrópica. 2014;29(3), 139-148.
84. Sule H, Muhamad R, Omar D, Hee AKW. Parasitism rate, host stage preference and functional response of *Tamarixia radiata* on *Diaphorina citri*. Int J Agric Biol. 2014;16, 783-788.
85. Huang Z, Qureshi J, Zhou X, Pu Z, Chen G, Yu J, Zhang H. Predation and functional response of the multi-coloured Asian lady beetle *Harmonia axyridis* on the adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri*. Biocontrol Sci Technol. 2018;1-15. doi: <https://10.1080/09583157.2018.1553028>
86. Oaten A, Murdoch WW. Functional response and stability in predator-prey systems. Amer Nat. 1975;109(967), 289-298. doi: <https://doi.org/10.1086/282998>
87. Van Lenteren JC. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. BioControl. 2012;57(1), 1-20. doi: <https://doi.org/10.1007/s10526-011->



- [9395-1](#)
88. Huffaker CB, Messenger PS, DeBach P. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control. En: 'Biological control'. Boston, MA: Springer, 1971. pp. 16-67. doi: [https://10.1007/978-1-4615-6531-4\\_2](https://10.1007/978-1-4615-6531-4_2)
89. Fathipour Y, Maleknia B. Mite predators. En: Omkar (Centre of Excellence in Biocontrol of Insect Pests, Ladybird Research Laboratory, Department of Zoology, University of Lucknow, Lucknow, India) (eds) 'Ecofriendly pest management for food security'. India Academic Press. 2016. p. 329-366. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00011-7>
90. Okuyama T. Behavioral states of predators stabilize predator-prey dynamics. *Theor ecol.* 2012;5(4), 605-610. doi: <https://doi.org/10.1007/s12080-011-0150-0>
91. Mols CM, van Oers K, Witjes LM, Lessells CM, Drent PJ, Visser ME. Central assumptions of predator-prey models fail in a semi-natural experimental system. *Proc R Soc Lond. Series B: Biol Sci*; 2004. 271(3), 85-87. doi: <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0110>
92. Okuyama T. Prey density-dependent handling time in a predator-prey model. *Community Ecol.* 2010;11(1), 91-96. doi: <https://doi.org/10.1556/comEc.11.2010.1.13>
93. Giller PS. The control of handling time and its effects on the foraging strategy of a heteropteran predator. *J Anim Ecol.* 1980;49, 699-712
94. Cook RM, Cockrell BJ. Predator ingestion rate and its bearing on feeding time and the theory of optimal diets. *J Anim Ecol.* 1978;529-547. doi: <https://doi.org/10.2307/3799>
95. Van Rijn PC, Bakker FM, van der Hoeven WAD, Sabelis MW. Is arthropod predation exclusively satiation-driven? *Oikos.* 2005;109: 101-116.
96. Fernández-Arhex V, Corley JC. La respuesta funcional: una revisión y guía experimental. *Ecol Austral.* 2004;14(1), 83-93. Disponible en: <https://www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/ecopoblaciones/TP/Respuesta%20funcional.pdf>
97. Fernández-Arhex V, Corley JC. The functional response of parasitoids and its implications for biological control. *Biocontrol Sci Technol.* 2003;13(4), 403-413. doi: <https://doi.org/10.1080/0958315031000104523>



**Supplementary material**

Use this page and subsequent ones to include tables and figures of a wider format

than a column, or other suitable materials. Otherwise, delete this section.