

## Nuevos haplotipos de *Diaphorina citri*, vector de *Candidatus Liberibacter* en zonas citrícolas de México

Augusto Gil Ceballos Ceballos<sup>1</sup>  
Ernesto Cerna Chavez<sup>1§</sup>  
Yisa María Ochoa Fuentes<sup>1</sup>  
Yolanda Rodríguez Pagaza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Departamento de Parasitología Agrícola. Calzada Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315. (ceballos\_91@outlook.com; yisa8a@yahoo.com; ypagaza@hotmail.com).

§Autor para correspondencia: jabaly1@yahoo.com.

### Resumen

Se identificaron nuevos haplotipos de *Diaphorina citri* también conocido como el psílido asiático de los cítricos, denominados DcitACC-1, DcitACC-2 y DcitACC-3. Los estudios se basaron en la amplificación de ADN del gen COI mitocondrial y se utilizaron individuos de diferentes zonas citrícolas del país, en algunas zonas productoras del país no se han realizado muestreos con anterioridad, específicamente en los municipios de Acatlán de Pérez, Oaxaca, Misantla y Tantoyuca, Veracruz y Huejutla, Hidalgo, por lo que se procedió a coleccionar insectos adultos sin distinción de género. El número de individuos de cada sitio coleccionado dependió de la disponibilidad de insectos en el lugar. Se obtuvieron en total 60 individuos coleccionados. La amplificación del ADN se realizó con los iniciadores específicos DCITRI COI-L y DCITRI COI-R, el producto de la reacción PCR se secuenció en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, AC (IPICYT). Las secuencias obtenidas se compararon con las reportadas en el Genbank y se determinó que existe una línea matriz que corresponde a los haplotipos Dcit-01 y Dcit-04 con número de identificación FJ190300 y FJ190306 (Boykin, 2007). Se obtuvieron 22 secuencias que se analizaron con los programas Oligo analyzer y Clustal Omega y se identificaron 11 secuencias iguales a los haplotipos Dcit-01 y Dcit-04. Los resultados mostraron 13 secuencias con diferencias en tres nucleótidos específicos: 61, 253 y 636, mismos que son reportados en este trabajo como nuevos haplotipos.

**Palabras clave:** *Diaphorina citri*, haplotipos, psílido.

Recibido: junio de 2022

Aceptado: octubre de 2022

## Introducción

Existen diferentes plagas que afectan la producción de los cítricos, algunas son vectoras de agentes causales de enfermedades, por lo que son consideradas las de mayor importancia debido al impacto que generan en la propagación de patógenos como virus, bacterias y hongos. La plaga de mayor importancia en la producción de cítricos es *Diaphorina citri*, también conocida como psílido asiático de los cítricos (PAC) (Martín *et al.*, 2014). El psílido provoca daños significativos, ya que se alimenta de brotes tiernos; introduce su aparato bucal picador-chupador para alimentarse de la savia que fluye por los tubos cribosos (Bové, 2006). Es capaz de hospedarse en malezas asociadas a los cítricos (Clarke y Brown, 2018).

El PAC es una plaga originaria de Asia que se ha reportado en diferentes países de América, en los que se encuentran: Brasil, Argentina, Estados Unidos de América y México, en donde fue reportada por primera vez en el estado de Campeche en el año 2002 (López-Arroyo *et al.*, 2005). Debido a que se trata de una plaga exótica es probable que durante la dispersión se genere un proceso conocido como especiación (Prentis *et al.*, 2008). Uno de los factores que influye en dicho proceso son las diferentes condiciones climáticas a las que son expuestos los individuos; es decir, la necesidad de adaptarse al medio genera cambios evolutivos a nivel genético y que pueden manifestarse de diferentes maneras (Boykin *et al.*, 2012).

Algunos de esos cambios pueden ser: tamaño, color, tiempo de gestación, épocas de reproducción, hospederos alternativos y resistencia a estrategias de control etc. (Moncayo-Donoso *et al.*, 2014). Actualmente los estudios relacionados al PAC están encaminados a cuestiones evolutivas, ecológicas y biológicas. Es por ello que se han priorizado las investigaciones que ayuden a comprender el comportamiento entre el insecto vector y el patógeno causante del HLB con el fin de encontrar elementos para desarrollar estrategias de manejo que ayuden a disminuir las pérdidas en la producción de cítricos (Flores-Aguilar *et al.*, 2020).

Los estudios moleculares son herramientas que permiten identificar las variantes genéticas, filogenéticas y de dinámica poblacional del PAC. Las técnicas empleadas se basan en el estudio del ADN mitocondrial y con ello la estructura de su genética poblacional que deducen y explican el comportamiento poblacional del PAC de diferentes regiones (Moncayo *et al.*, 2014). Actualmente los estudios moleculares para la identificación y descripción de variantes genéticas están relacionados con el gen del citocromo oxidasa (COI) (Fuentes *et al.*, 2018).

En el COI se encuentran heredadas las características genéticas ascendentes, es por ello que el gen COI resulta ser el mejor objeto de estudio, ya que permite rastrear los ancestros de cualquier individuo (Paternina *et al.*, 2016). De León *et al.* (2011) reporta que existe un alto flujo genético entre las poblaciones del PAC al comparar registros de poblaciones de diferentes países como Sudáfrica, Estados Unidos de América, México, Argentina y Brasil. Mediante el uso del gen mitocondrial (COI) encontró que existen 23 haplotipos globales y que en México el haplotipo dominante es el H9. Este se encuentra en Yucatán, Nuevo León, Tamaulipas y San Luis Potosí.

En el Caribe se describieron 12 haplotipos de una muestra de 46 individuos utilizando el gen mitocondrial COI, de ellos H2 y H7 son dominantes, estos haplotipos no se encuentran reportados en México, pero si están en Texas y Florida. Las mutaciones genéticas están relacionadas con

diferentes factores, se encontraron individuos del PAC en malezas cercanas a las huertas de cítricos, por lo que es importante verificar la presencia de individuos en vegetación cercana a los cultivos (Clarke y Brown, 2018). Boykin *et al.* (2012) analizó 212 secuencias obtenidas de 52 poblaciones de diferentes partes del mundo, donde encontró que las secuencias reportadas por cada país son estrechamente similares y solo tienen diferencias en uno de sus nucleótidos.

En dicho trabajo se agruparon de acuerdo con sus similitudes y se redujeron a ocho haplotipos globales que se encuentran distribuidos en el mundo. Estos haplotipos se encuentran en países donde existen diversos factores bióticos y abióticos de regiones con amplio flujo genético nacional e internacional. La relevancia de estudios de la diversidad genética de poblaciones se ve reflejada en las mutaciones de individuos, algunas se expresan de forma física como tamaño y elongación del cuerpo, ojos, alas e incluso aparato bucal, también existen expresiones ecológicas en las que los individuos modifican sus ciclos de vida y reproducción, así como los tiempos de apareamiento y la adaptación a climas y altitudes aún con muestras limitadas de colectas o de colecciones conservadas para su estudio morfológico y que además han mostrado variaciones en la distribución de las poblaciones (Lotta-Arevalo *et al.*, 2020).

Existen casos en los que se han identificado nuevas variantes genéticas desconocidas en poblaciones aisladas; es decir, poblaciones donde el flujo genético se ve limitado y genera presión evolutiva sobre grupos de individuos, lo que provoca alteraciones manifestadas genéticamente (Bonal *et al.*, 2019). Los cambios evolutivos pueden ser generados por diferentes factores, uno de ellos es el uso de agentes químicos para el control de insectos plaga, en los que se han encontrado diferencias genéticas en situaciones donde se utilizan estrategias de control intensivas con la finalidad de reducir al mínimo las poblaciones; sin embargo, esto genera una presión de selección en los individuos que a su vez mutan y se hacen resistentes (Atencia *et al.*, 2018).

## **Materiales y métodos**

El presente trabajo tuvo como objetivo el estudio de las variantes genéticas de *Diaphorina citri* mediante el uso de la técnica PCR punto final con la finalidad de conocer la distribución de las poblaciones en zonas citrícolas del país. Así mismo, describir y conocer si existen nuevos haplotipos del PAC en zonas citrícolas donde no se han realizado estudios previos. Los criterios para la selección de huertas fueron: Plantas de hasta 10 años, huertas que se encuentren junto a cuerpos de agua y centros de acopio de cítricos como empacadoras y enceradoras, huertas en las que se produjera cualquier tipo de cítricos.

Con ayuda de un aspirador bucal se colectaron hembras y machos adultos en la temporada de primavera verano del año 2020 en seis estados de la república: Ciudad Mante, Tamaulipas, Morelos, Nuevo León; Tecmán, Colima, Misantla (Misantla es municipio y pertenece a Veracruz), (Veracruz es el estado, no el municipio); Tantoyuca, Veracruz; Huejutla, Hidalgo y Acatlán de Pérez Figueroa, Oaxaca. Se utilizaron en total 60 individuos adultos, mismos que se procesaron para obtener ADN, posteriormente 55 se sometieron a PCR para amplificar su ADN.

Debido a la baja disposición de individuos en las huertas en cada sitio de muestreo hubo diferente número de individuos (Cuadro 1). Los psílidos fueron extraídos de plantaciones comerciales de naranja, limón y mandarina que no presentaban sintomatología aparente de presencia de HLB. Los

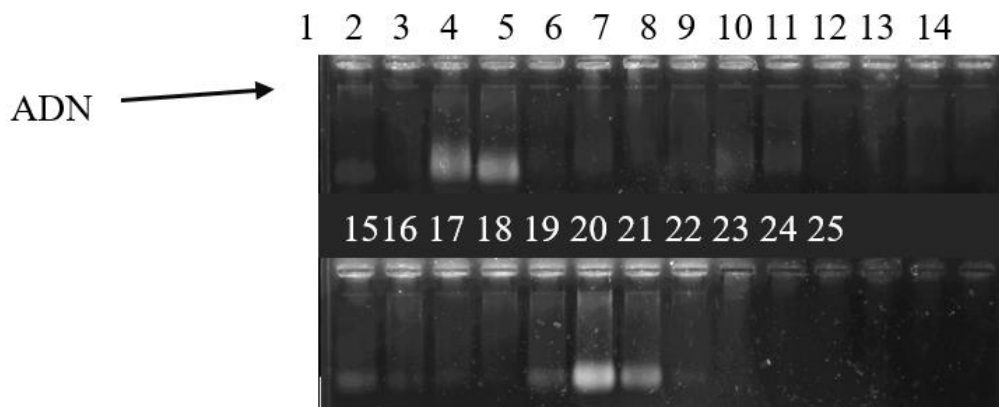
criterios para la selección de huertas fueron: plantas de hasta 10 años, huertas que se encuentren junto a cuerpos de agua y centros de acopio. Los insectos se colectaron con ayuda de un aspirador manual y se transportaron en frascos viales con alcohol al 96%. La extracción se realizó siguiendo el método CTAB modificado por Almeyda y Rocha, (2001). Se utilizó un psílido por cada extracción para hacer un total de 55 extracciones.

**Cuadro 1. Claves y número de individuos por cada sitio de colecta.**

Sitio	Clave	Sitio	Clave		
Ciudad Mante, Tamaulipas (17 individuos).	A1	Monte Morelos, Nuevo León (10 individuos)	A7		
	A2		A8		
	A11		A9		
	A12		A10		
	A13		A39		
	A14		A40		
	A15		A41		
	A16		A42		
	A17		A43		
	A29		A44		
	A30		Huejutla, Hidalgo (6 individuos)	A17	
	A50			A18	
	A51			A19	
	A52			A31	
	A53			A32	
	Misantla, Veracruz (4 individuos)		A54	Acatlán de Pérez, Oaxaca (5 individuos).	A33
			A55		A20
A56		A21			
A3		A22			
Tantoyuca, Veracruz (5 individuos)	A4	Tecomán, Colima (8 individuos)	A23		
	A5		A24		
	A6		A25		
	A34		A26		
	A35		A27		
	A36		A28		
	A37		A47		
	A38		A48		
			A49		
	A56				

Se utilizó un termociclador punto final marca Select Bioproducts. Se procesó el ADN de un insecto por separado, para un total de cinco individuos por cada sitio colecta. Los iniciadores utilizados fueron: DCITRI COI-L (AGGAGGTGGAGACCCAATCT) y DCITRI COI-R (TCAATTGGGGGAGAGTTTTG) (Clarke y Brown, 2018). Las condiciones de amplificación fueron: temperatura de predesnaturalización 94 °C durante 4 min, 40 ciclos con temperaturas desnaturalización a 94 °C por 40 s, alineación a 58 °C durante 40 s, con una extensión de 1 min a 72 °C.

El marcador de peso molecular utilizado fue de 100 bp marca invitrogen para un fragmento de 812 pb, mismos que fueron visualizados en un gel de agarosa al 1.5% mediante un transluminador (Figura 1). El ADN obtenido de los insectos para la descripción de haplotipos fue enviado al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, AC (IPICYT). Las secuencias obtenidas, producto de las pruebas PCR, se compararon con las reportadas en el Genbank utilizando los programas OligoAnalyzer y Clúster Omega; asimismo, con ayuda de este último se elaboró un dendrograma de dichas secuencias.

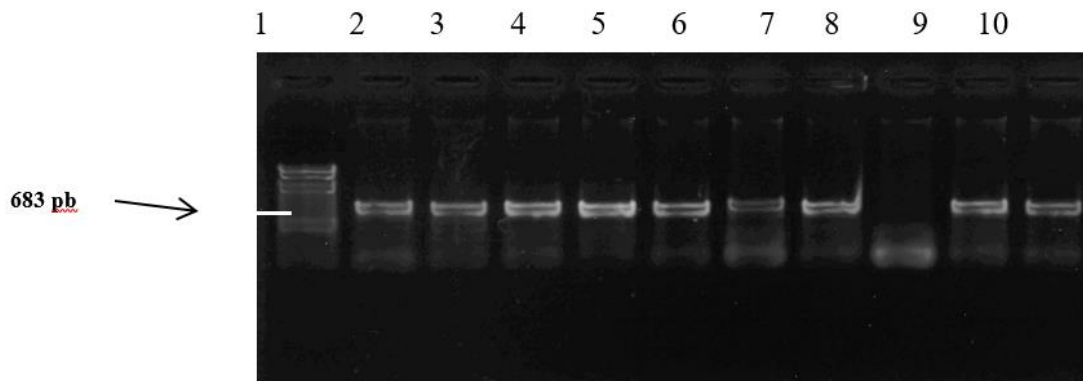


**Figura 1.** Gel de agarosa al 2% que muestra la extracción ADN por psílido. Pozos: 1-5 Misantla, Veracruz; 6-15 Ciudad Mante, Tamaulipas; y 16-25 Montemorelos, Nuevo León.

## Resultados

El ADN que resultó como producto de la PCR, en algunos individuos para la identificación de haplotipos del PAC si amplificó, por lo que se visualizó en el gel de agarosa. En el gel se observó que la amplificación del ADN se ubicó en el peso molecular 683 pb (Figura 2). En total se obtuvieron 23 amplificaciones finales de un total de 60 insectos colectados y 55 procesados, mismas que fueron enviadas a secuenciar.

Se encontraron tres nuevos haplotipos a los que se les denominó DcitACC-1, DcitACC-2 y DcitACC-3. El resultado de las comparaciones entre secuencias obtenidas y entre sitios de muestreo presenta diferencias en algunos nucleótidos entre individuos, aun cuando forman parte de una misma población. Una vez comparadas las secuencias obtenidas con las reportadas en el Genbank, se encontró que existe un ancestro común con los haplotipos Dcit-01 y Dcit-04 con número de identificación FJ190300 y FJ190306 (Boykin *et al.*, 2007).



**Figura 2.** Amplificación de ADN con los primers DCITRI COI-L y DCITRI COI-R para gn mitocondrial de *Diaphorina citri*. Pozos: 1) marcador molecular; 2) Ciudad Mante, Tamaulipas; 3-6) Misantla, Veracruz; 7) Huejutla, Hidalgo; 8, 10 y 11) Acatlán de Pérez, Oaxaca; el pozo 9 sin reacción.

De los 23 individuos seleccionados de los cinco estados, 11 son iguales a los haplotipos Dcit-01 y Dcit-04. Se encontró que 13 secuencias correspondientes a: Misantla, Veracruz; Huejutla, Hidalgo; Ciudad Mante, Tamaulipas; Acatlán de Pérez, Oaxaca y General Terán, Nuevo León, presentan diferencias en tres nucleótidos específicos; es decir, el haplotipo Dcit-01 presenta una base ‘T’, mientras que las 12 muestras antes mencionadas presentan una base ‘G’. Otra diferencia se muestra en el nucleótido 253, donde normalmente hay una base ‘T’, 7 de las 12 muestras tienen una base ‘C’ (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Diferencias entre nucleótidos de haplotipos *D. citri* encontrados por uso del gen mitocondrial COI. 1) ancestro común reportado en Genbank; 2-14) nuevos haplotipos.

Sitio	Muestra	Nucleótidos			Haplotipos
		61	253	636	
1. Genbank	Dcit-01	T	T	T	FJ190300, FJ190306
	Dcit-04	T	T	T	
2. Tecoman, Colima	A25	G	C	T	DcitACC-1 (nuevo)
3. Tantoyuca, Veracruz	A34	G	C	T	
4. Huejula, Hidalgo	A33	G	C	T	
5. Ciudad Mante, Tamaulipas	A51	G	C	T	
6. Misantla, Veracruz	A5	G	C	T	
7. Misantla, Veracruz	A6	G	C	T	
8. Acatlán de Pérez, Oaxaca	A23	G	C	T	
9. Tantoyuca, Veracruz	A36	G	T	T	DcitACC-2 (nuevo)
10. Tantoyuca, Veracruz	A35	G	T	T	
11. Montemorelos, Nuevo León	A43	G	T	T	DcitACC-3 (nuevo)
12. Misantla, Veracruz	A3	G	T	T	
13. Tecoman, Colima	A49	G	T	T	
14. Acatlán de Pérez, Oaxaca	A22	G	T	A	

Respecto al haplotipo Dcit-04 las diferencias son en los mismos nucleótidos que Dcit-01. El dendrograma muestra las distancias genéticas que existen entre grupos de individuos y los haplotipos Dcit-01 y Dcit-04 reportados en el Genbank. Se puede apreciar que los haplotipos denominados DcitACC-1, DcitACC-2 y DcitACC-3 son genéticamente diferentes con los haplotipos FJ190300 y FJ190306 (Boykin *et al.*, 2007). Los haplotipos DcitACC-1 y DcitACC-3 son genéticamente más cercanos, mientras que DcitACC-2 es más distante. El dendrograma muestra que el grupo DcitACC-2 es diferente a los haplotipos reportados para México y a su vez es diferente a los grupos DcitACC-1 y DcitACC-3 (Figura 3).



**Figura 3. Dendrograma generado a partir de las secuencias obtenidas por cada uno de los grupos de individuos procesados.**

## Discusión

En este trabajo se identificó una línea matriz registrada en el Genbank con el número de acceso FJ190346 y que es nombrado como Dcit-01 (Boykin *et al.*, 2007); es decir, es un ancestro común del que se encuentra reportado en diferentes partes del mundo incluido México y que además, en nuestro país es el que predomina. El registro FJ190346 sirvió como referencia para detectar las diferencias que existen específicamente en tres nucleótidos (Cuadro 2).

Las variaciones genéticas están relacionadas a nuevos reportes en los que se ha documentado la presencia del PAC donde anteriormente no se encontraba (Monzó *et al.*, 2015). De acuerdo con lo reportado por Luo y Agnarsson (2018), hay otras líneas matrices identificadas debido a la distribución de los sitios muestreados que corresponden a países con factores que influyen en hábitos ecológicos en el desarrollo del PAC, así como condiciones diferentes a las de México, por ejemplo: clima, relieve, depredadores, variedades hospederas, etc.

Otro punto importante es que las secuencias reportadas en México corresponden solo a una región geográfica del país, donde la movilidad de las poblaciones puede verse limitada por factores como: trazabilidad de los cítricos, condiciones climáticas que no se encuentran en otros puntos del país y poca disponibilidad de individuos del PAC debido a la intensidad de las aplicaciones para su control, esto sugiere que los muestreos son limitados y por ello no se han identificado cuantos haplotipos existen.

Las poblaciones del PAC son relacionadas con las diferentes condiciones climáticas y otras como el uso intensivo de plaguicidas y otras estrategias de control a las que son expuestas (Lashkari *et al.*, 2014). El presente trabajo identificó nuevas variantes genéticas del PAC sustraídas de diferentes puntos del país y que a su vez es un indicador de una diversidad más amplia en las poblaciones. Este punto se puede contrastar con el trabajo de Guidolin *et al.* (2014) donde reporta una amplia distribución de las variantes genéticas y las relaciona con la localización de los puntos de muestreo.



Existen algunas coincidencias con lo reportado por Clarke y Brown (2018) donde relacionan la distribución y variedad de las poblaciones del PAC con el cambio climático debido al deterioro en los rangos de temperatura habituales de las regiones donde históricamente se desarrollan y reproducen los individuos.

Los rangos de temperatura para el desarrollo óptimo del PAC van de 25 °C a 28 °C; sin embargo, existen reportes donde se menciona que sobrevive a temperaturas de -7 °C hasta 48 °C (Aurambout *et al.*, 2009). Las variantes encontradas en este trabajo pueden estar relacionadas con las condiciones climáticas en las que habitan, donde la temperatura máxima promedio es de 26 °C a 30 °C y las mínimas son 18 °C a 21 °C, mientras que 22 °C a 25 °C es el rango de temperatura promedio que predomina, lo que indica que este rango de temperatura no es el óptimo en el que el PAC se desarrolla (Díaz-Padilla *et al.*, 2018).

Otro aspecto son las estrategias de control, el uso y abuso del control químico que genera grados de resistencia que se manifiestan en la expresión y modificación genética (Mora-Aguilera *et al.*, 2016). Este punto coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, las bajas poblaciones encontradas en las zonas citrícolas son resultado de las estrategias de control utilizadas ya que en algunas huertas se muestreó en el momento donde se encontraban realizando aplicaciones.

En este trabajo se encontraron nuevos haplotipos en algunos de los principales estados productores de cítricos del país, debido a la importancia que estos sitios representan se hacen aplicaciones a gran escala y esto ejerce presión de selección en los individuos. Esto coincide con lo mencionado por Atencia *et al.* (2018) donde en zonas de alto impacto de plagas se han hecho aplicaciones constantes, las colectas sugieren mutaciones de haplotipos conocidos en nuevos haplotipos con variaciones en dos o tres nucleótidos originados debido a la presión de selección, aún en cantidades limitadas de colectas individuos

Se ha reportado que en el Caribe existen haplotipos que en México no se encuentran, se han muestreado malezas cercanas a las plantaciones de cítricos, esto puede ser un indicador de la movilidad a corta distancia que los individuos del PAC pueden tener para refugiarse cuando las condiciones no les permiten permanecer en sus hospederos habituales (Clarke y Brown, 2018). En México existen pocos reportes de las variantes genéticas del PAC, trabajos como el de Grafton-Cardwell *et al.* (2013) hacen referencia a las poblaciones y sus variantes genéticas encontradas en Brasil y Florida; es decir, contemplan muestras solo de algunas zonas citrícolas de la región.

Restringir los muestreos solo a las zonas productoras de cítricos o regiones con alto flujo genético donde las poblaciones no están aisladas, es uno de los factores que limitan la identificación y descripción de los haplotipos del PAC (Moncayo-Donoso *et al.*, 2014). Mientras que este trabajo tuvo colectas de zonas que no han sido muestreadas o reportadas anteriormente, por esta razón podría haber diferencias significativas en las secuencias obtenidas. Los individuos colectados en este trabajo son de algunos estados donde la actividad citrícola no es la principal, y también es importante mencionar que en algunas huertas las poblaciones del PAC eran muy bajas debido al control que se realiza por tratarse de una plaga de importancia. Esto coincide con lo reportado por Bonal *et al.* (2019) en donde se identificaron variaciones genéticas en poblaciones aisladas de *Curculio* spp. Donde el intercambio genético es limitado por la distancia entre poblaciones, esto provoca que los individuos muten. Esto podría verse reflejado en la modificación de los tiempos de reproducción o incluso cambios morfométricos, aunque faltan estudios que lo sustenten.



Los sitios de colecta pueden ser la principal razón de que se hayan identificado diferencias en las secuencias obtenidas con los trabajos ya que tomando en cuenta lo reportado por Ajene *et al.* (2022) son directamente obtenidas del banco de genes, lo que sugiere que los individuos procesados fueron obtenidos de las principales zonas productoras de cítricos de diversos países o de lugares donde existe una amplia plasticidad genética, mientras que los muestreos de este trabajo se realizaron en zonas geográficas aisladas en lugares donde el cultivo de los cítricos no predomina a pesar de ser huertas comerciales.

## Conclusiones

La muestra utilizada en este trabajo fue suficiente para la identificación de nuevos haplotipos, de igual manera se logró identificar su distribución genética y ubicación geográfica. Los nuevos haplotipos identificados coinciden con las regiones geográficas del país donde no se ha realizado investigación referente a las variantes genéticas, esto confirma que hace falta implementar muestreos en huertas de zonas donde el cultivo de los cítricos no es el dominante. La distribución de los haplotipos en México es más amplia y no se restringe solo a los que se encuentran reportados en el Genbank.

La identificación de tres nuevos haplotipos sugiere que en trabajos futuros las colectas se deben concentrar en la mayor cantidad de individuos presentes en los cultivos, ya que debido a las aplicaciones y estrategias de control no se cuenta con abundancia de individuos. La poca disponibilidad del PAC en algunas huertas dificulta la expansión y retroalimentación de las investigaciones. Es importante resaltar que existen huertas donde el flujo de las poblaciones se restringe debido al aislamiento del lugar donde se presentan, en esta investigación se encontraron nuevos haplotipos en lugares donde las huertas estaban rodeadas de otros cultivos o de ganado.

El aporte en la identificación de nuevos haplotipos contribuye a generar estrategias de control del PAC y complementa otros trabajos de identificación relacionados con hábitos del psílido. Se sugiere realizar estudios morfológicos y ecológicos en poblaciones del PAC para identificar de qué manera los diferentes haplotipos se expresan entre sitios. En futuros trabajos es importante ampliar los sitios de colecta regiones del país donde no se han realizado muestreos, tomar en cuenta todos los cítricos e incluso colectar en huertos de traspatio y en malezas cercanas a las huertas; asimismo, volver a colectar en las principales zonas productoras del país tomando en cuenta los criterios antes mencionados para dar seguimiento a las mutaciones y registrar nuevas variantes genéticas.

## Literatura citada

- Ajene, I. J.; Khamis, F. M.; Van Asch, B.; Pietersen, G.; Seid, N.; Wairimu, A. W.; Ombura, F. L.; Akutse, K. S.; Sétamou, M.; Subramanian, S.; Mohammed, S. and Ekesi, S. 2022. Genetic diversity of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) unravels phylogeographic structure and invasion history of Eastern African populations. *Ecol Evol.* 12(7):2-10. Doi: 10.1002/ece3.9090.
- Almeyda, L. I. H. and Rocha, P. M. A. 2001. The Use of polymerase chain reaction and molecular hybridization for detection of phytoplasmas in different plant species in Mexico. *Rev. Mex. Fitopatol.* 10(19):1-9.

- Atencia, M. C.; Pérez, M. D. J.; Caldera, S. M.; Jaramillo, M. C. y Bejarano, E. E. 2018. Variabilidad genética de *Aedes aegypti* en el departamento de Sucre, Colombia, mediante el análisis de la secuencia de nucleótidos del gen mitocondrial ND4. *Biomédica*. 38(2):267-276. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3728>.
- Aurambout, J. P.; Finlay, K. J.; Luck, J. and Beattie, G. A. C. 2009. A concept model to estimate the potential distribution of the Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) in Australia under climate change-a means for assessing biosecurity risk. *Ecol. Modell.* 220(19):2512-2524. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2009.05.010>.
- Bonal, R.; Muñoz, A.; Aparicio, J. M.; Santoro, M.; Espelta, J. M. 2019. Filogeografía, factores históricos y especificidad parásito-hospedador: estudio comparativo de las comunidades de insectos depredadores de bellotas (*Curculio* spp.) en la Península Ibérica y California. *Ecosistemas*. 28(1):15-25.
- Bové, J. M. 2006. Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathol.* 88(1):7-37. <https://doi.org/10.4454/jpp.v88i1.828>.
- Boykin, L. M.; Bagnall, R. A.; Frohlich, D. R.; Hall, D. G.; Hunter, W. B.; Katsar, C. S.; McKenzie, C. L.; Rosell, R. C. and Shatters, R. G., 2007. Twelve polymorphic microsatellite loci from the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama, the vector for citrus greening disease, huanglongbing. *Mol. Ecol. Notes*. 7(6):1202-1204. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01831.x>.
- Boykin, L. M.; De Barro, P.; Hall, D. G.; Hunter, W. B.; McKenzie, C. L.; Powell, C. A. and Shatters, R. G. 2012. Overview of worldwide diversity of *Diaphorina citri* Kuwayama mitochondrial cytochrome oxidase 1 haplotypes: Two Old World lineages and a New World invasion. *Bull. Entomol. Res.* 102(5):573-582. <https://doi.org/10.1017/S0007485312000181>.
- Clarke, S. V. and Brown, S. E. 2018. Identification and distribution of Haplotypes of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in Jamaica and the Caribbean identification and distribution of Haplotypes of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in Jamaica and the Caribbean. 111(5):2401-2408. <https://doi.org/10.1093/jee/toy194>.
- De León, J. H.; Sétamou, M., Gastaminza, G. A.; Buenahora, J.; Cáceres, S.; Yamamoto, P. T.; Bouvet, J. P. and Logarzo, G. A. 2011. Two separate introductions of Asian citrus psyllid populations found in the American continents. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 104(6):1392-1398. <https://doi.org/10.1603/AN11086>.
- Díaz, P. G.; López, A. J. I.; Sánchez, C. I.; Guajardo, P. R. A.; Mora, A. G. y Quijano, C. J. Á. 2018. Áreas de abundancia potencial en México del vector del Huanglongbing, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 5(7):1137-1153. <https://doi.org/10.29312/remexca.v5i7.836>.
- Flores, A. A.; Luna, R. M.; Hernández, C. B. y Castañeda, O. J. C. 2020. Primeros reportes de la presencia y frecuencia de sexos de *Diaphorina citri* Kuwayama en zonas del centro y norte del estado de Veracruz, México. *In: memorias del congreso internacional de investigación Academia Journals Hidalgo*. Hidalgo, México. 610-613 pp.
- Fuentes, A.; Braswell, W. E.; Ruiz, A. R. and Racelis, A. 2018. Genetic variation and population structure of *Diaphorina citri* using cytochrome oxidase I sequencing. *PLoS One*. 13(6):1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198399>.
- Grafton, C. E. E.; Stelinski, L. L. and Stansly, P. A. 2013. Biology and management of Asian citrus psyllid, vector of the huanglongbing pathogens. *Annu. Rev. Entomol.* 58(1):413-432. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153542>.

- Guidolin, A. S.; Fresia, P. and Co, F. L. 2014. The genetic structure of an invasive Pest, the Asian Citrus Psyllid *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). 9(12):1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115749>.
- Hernández-Fuentes, L.M.; Urías-López, M. A.; Gómez-Jaimes, J.; López-Arroyo, I.; Velázquez-Monreal, J. J.; Orozco-Santos, M. 2014. El Huanglongbing y su vector *Diaphorina citri* en limón persa en Nayarit: recomendaciones para su manejo. 1<sup>ra</sup>. Ed. Santiago Ix cuintla. Nayarit, México. 74 p.
- Lashkari, M.; Manzari, S.; Sahragard, A.; Malagnini, V.; Boykin, L. M. and Hosseini, R. 2014. Global genetic variation in the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and the endosymbiont Wolbachia: links between Iran and the USA detected. Pest Manag. Sci. 70(7):1033-1040. <https://doi.org/10.1002/ps.3643>.
- Lotta, A. I. A.; Vargas, R. M.; Nates, P. G.; Matta, N. E. y Ospina, T. R. 2020. Accediendo al pasado: uso de especímenes de colección como fuentes de información genética para el género *Bombus* (Hymenoptera: Apidae). Rev. Biol. Trop. 68(2):394-414. <https://doi.org/10.15517/rbt.v68i2.36350>.
- Luo, Y. and Agnarsson, I. 2018. Global mtDNA genetic structure and hypothesized invasion history of a major pest of citrus, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). 8(1):257-265. <https://doi.org/10.1002/ece3.3680>.
- Moncayo, D. M.; Almanza, P. M. y Caicedo, V. A. 2014. Diversidad genética de *Diaphorina citri* en cultivos cítricos del Valle del Cauca y Quindío (Colombia). Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 12(2):106-114.
- Monzó, C.; Urbaneja, A. y Tena, A. 2015. Los psílidos *Diaphorina citri* y *Trioza erytreae* como vectores de la enfermedad de cítricos Huanglongbing (HLB): reciente detección de *T. Erytreae* en la Península Ibérica. Boletín SEEA. 2011(1):29-37.
- Mora, A. G.; Robles, G. P.; López, A. J.; Flores, S. J.; Acevedo, S. G.; Domínguez, M. S.; Gutiérrez, E. A. y Loeza, K. E. 2016. Situación actual y perspectivas del manejo del HLB de los cítricos. 108-119 pp.
- Paternina, L. E.; Verbel, V. D. y Bejarano, E. E. 2016. Comparación y utilidad de las regiones mitocondriales de los genes 16S y COX1 para los análisis genéticos en garrapatas (acari: Ixodidae). Biomedica. 36(2):295-302. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.3116>.
- Prentis, P. J.; Wilson, J. R. U.; Dormontt, E. E.; Richardson, D. M. and Lowe, A. J. 2008. Adaptive evolution in invasive species. Trends Plant Sci. 13(6):288-294. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.03.004>.