





Capítulo VII

Procedimientos para la cría masiva de *Diaphorina citri* y *Tamarixia radiata*

Hugo César Arredondo Bernal

Yenifer Campos Patiño

Laura Isabel Colorado Herrera

Takumasa Kondo

Jorge Sánchez González

El establecimiento de un pie de cría de *D. citri* comienza con recolectas del insecto en zonas urbanas, jardines de traspatio o cercos vivos de *M. paniculata* que no estén tratados con plaguicidas. Los psílidos para el pie de cría también se pueden recolectar de otros hospederos de la familia Rutaceae, como la swinglea *Swinglea glutinosa* (Blanco) Merr., y varias especies de cítricos, *Citrus* spp., siempre y cuando no hayan sido tratados con plaguicidas, o por lo menos que hayan superado el periodo de carencia desde la última aplicación.

Los psílidos preferiblemente se recolectan en estado adulto para evitar la contaminación con hongos y parasitoides que atacan el estado ninfal y se liberan en plantas de *M. paniculata* por siete días para que las hembras grávidas ovipositen en los brotes tiernos. Después de la oviposición se remueven los psílidos adultos con un aspirador bucal para obtener ninfas de edad similar. En caso de recolectar ninfas de *D. citri* para iniciar un pie de cría, se recomienda dejar las ninfas colectadas en una jaula de cuarentena hasta la emergencia de adultos sanos.

En la figura 15 se explica el flujo de los procesos de cría masiva de *T. radiata*, teniendo como base la adecuación de la infraestructura necesaria, compuesta por invernaderos para la cría de los insectos y un cuarto oscuro de extracción del parasitoide mediante luz natural.

Debido a la escasez de plantas de mirto en el mercado nacional, el protocolo inicia con la recolecta y siembra de semillas de esta planta. También hay un componente esencial que consta del manejo agronómico del mirto, que incluye fertilización, podas, manejo de plagas, entre otros.

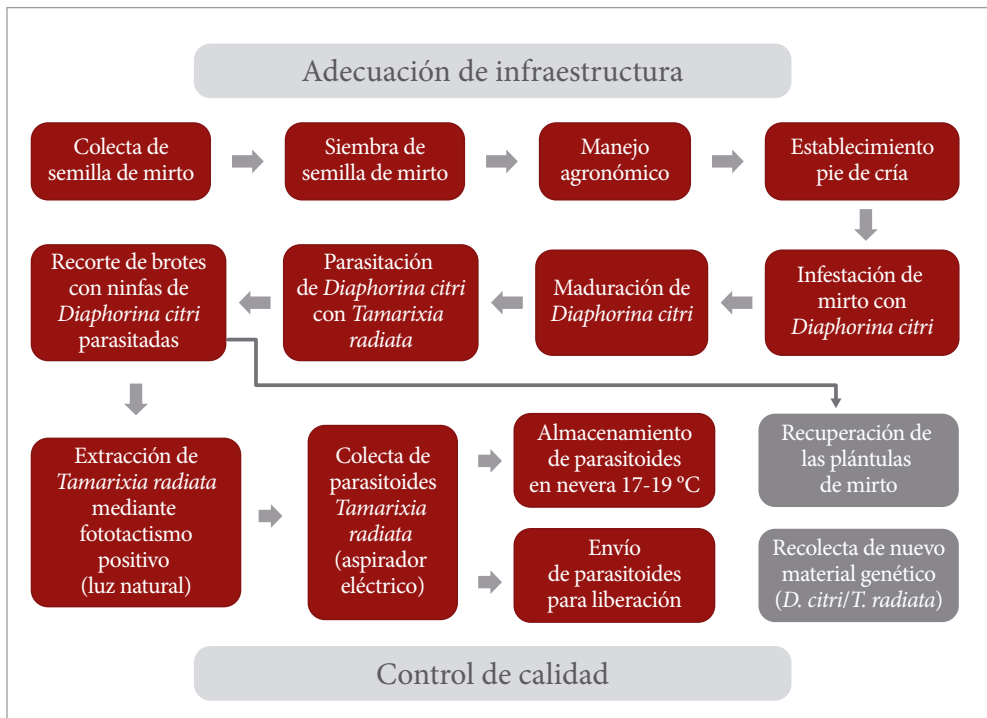


Figura 15. Diagrama de flujo del proceso de cría masiva de *Tamarixia radiata*.

Fuente: Elaboración propia

Después de la infestación de *M. paniculata* con *D. citri*, las ninfas se pasan a un cuarto de maduración (temperatura promedio de $25,1 \pm 1,6$ °C y humedad relativa de $70,5 \pm 7,3$ %), de ocho a diez días, para obtener ninfas de tercer a quinto instar, estados óptimos para la parasitación. Estas ninfas luego se pasan al área de parasitación con *T. radiata*; allí se cuenta el número de ninfas por jaula y se liberan los adultos del parasitoide con una relación de 1 a 5 (es decir, se libera un adulto de *T. radiata* por cada cinco ninfas de *D. citri*), y se suministra miel de abeja como alimentación suplementaria para alargar la longevidad de los parasitoides.

Pasados unos ocho a diez días de la parasitación, se realiza un corte de los brotes con las ninfas parasitadas y se transportan al cuarto de emergencia. Las avispietas parasitoides de *T. radiata* comienzan a emerger en el décimo día; los parasitoides que emergen son atraídos a la luz natural, que entra por una ventana única del cuarto oscuro, debido a su hábito de fototactismo positivo, y allí se recolectan con un aspirador eléctrico y se guardan en frascos de plástico de 50 ml con capacidad de 50 a 100 avispietas.

En cada frasco de plástico se incluye un papel con líneas de miel de abeja pura como alimento. Los frascos se pueden enviar inmediatamente a los lugares de liberación, o se pueden almacenar en frío a una temperatura entre 17 y 19 °C hasta diez días o hasta que se requieran para liberaciones en campo o para mantener el pie de cría.

Las plantas recortadas en el lugar de parasitación se trasladan al cuarto de recuperación para ser reusadas cuando vuelvan a presentar brotación. Se recomienda la recolección de nuevos ejemplares de *D. citri* y *T. radiata* por lo menos una vez cada tres meses para evitar la degradación genética de los insectos por endogamia.

El control de calidad es un aspecto importante de la cría masiva de insectos, proceso en el que la observación es esencial. Hay algunos métodos que se pueden incorporar para mantener una producción de *T. radiata* de buena condición (véase subcapítulo *Control de calidad*).

Infraestructura

La infraestructura para la producción masiva de *T. radiata* y la cría de *D. citri* es esencial. Además de un invernadero, se requieren semilleros, jaulas de cría, elementos de colecta, entre otros.

Instalaciones

Para la cría de *T. radiata* se requiere una estructura tipo invernadero (figura 16a), cubierta con malla antiáfido y puertas de doble acceso (figura 16b) o cortinas de aire para evitar fugas o entradas de organismos. El invernadero provee un espacio cerrado con condiciones ambientales que favorecen el crecimiento de las plantas, el insecto hospedero y el parasitoide.



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 16. Instalación de producción masiva de *T. radiata* en el Centro de Investigación Palmira. a. Casa de vidrio con cobertura adicional con plástico agrofrío; b. Doble puerta.

La casa de vidrio de Corpoica tiene además una cobertura adicional con plástico agrofrío que ayuda a disminuir la temperatura en el interior; cuenta también con microaspersores y extractores de aire que se activan mediante sensores de temperatura. Se utiliza para las crías de *D. citri* y *T. radiata*. Tiene tres cubículos, que están divididos para los diferentes procesos: el primer cubículo se utiliza para el proceso de infestación; el segundo, para la maduración de las ninfas de *D. citri*; y, el tercero, para realizar el proceso de parasitación de *D. citri* con *T. radiata*.

Insumos para la elaboración de jaulas de madera con malla antiáfidos

Las jaulas de cría de *D. citri* se elaboran de forma manual. Cada tiene una dimensión de 70x70x70 cm. Los insumos necesarios para su construcción se listan a continuación:

- Bastidores de madera
- Tijeras
- Grapas
- Puntillas 1,5"
- Grapadora industrial
- Silicona líquida
- Cintas de velcro
- Malla

Sustrato para la cría de *Diaphorina citri* (plantas de mirto)

Previo a la colecta de *D. citri*, se realiza una poda a las plantas de mirto para estimular la brotación. Se podan con mucho cuidado, a una altura de 30 cm y cuando adquieren los brotes tiernos se inicia la recolecta de adultos de *D. citri* en el campo. Según Palomares-Pérez et al. (2015) los brotes óptimos para infestar son aquellos que miden entre 5 a 10 cm de longitud.

El tema de la siembra y mantenimiento de *Murraya paniculata* (L.), planta de mirto, se desarrolló con amplitud en el capítulo IV de este documento.

Elementos necesarios para la colecta de *Diaphorina citri*

Para la colecta de *D. citri* se requieren los elementos siguientes:

- Plantas de *M. paniculata*
- Nevera de poliestireno expandido (icopor) para el transporte de los insectos (figura 17a)
- Lupa común o de bolsillo con capacidad de magnificación de 40X (figura 17b y c).
- Tijeras podadoras (figura 17d)
- Aspirador bucal (figura 17e)
- Tarros de plástico grandes (figura 17f) o pequeños (figura 17g)
- Papel periódico (figura 17h)
- Gel refrigerante (figura 17i)



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 17. Elementos de colecta. a. Nevera de poliestireno expandido (icopor); b. Lupa; c. Lupa de bolsillo 40X; d. Tijera podadora; e. Aspirador bucal; f. Tarro de plástico con tapa de malla; g. Tarro de plástico pequeño para captura de adultos de *Diaphorina citri* o *Tamarixia radiata*; h. Papel periódico; i. Gel refrigerante.

Colecta de adultos de *Diaphorina citri* y establecimiento de un pie de cría

El pie de cría se establece a partir de material colectado en campo, en cercos vivos de *M. paniculata*, *Swinglea glutinosa* o en cultivos de *Citrus* spp. donde no se realicen aplicaciones de plaguicidas. Todo el material vegetal se transporta envuelto en papel periódico y dentro de la nevera refrigerada para garantizar la frescura.

De regreso a las instalaciones donde se realiza la producción masiva, los psílicos adultos se liberan en las jaulas con *M. paniculata* para iniciar el establecimiento del pie de cría.

Cría de *Diaphorina citri*

En jaulas de madera de 70x70x70 cm (medidas del protocolo mexicano) se colocan nueve plantas de *M. paniculata*, las cuales se podan aproximadamente una semana antes, para la obtención de brotes tiernos. En cada jaula se liberan 250 psílicos adultos de *D. citri*. Los insectos se dejan en las plantas por siete días, tiempo suficiente para que las hembras depositen los huevos en los brotes. Pasado este tiempo, los adultos se remueven con ayuda del aspirador bucal y se dejan las plantas solo con huevos y ninfas de los primeros instares.

Las plantas con suficientes huevos y ninfas del primer y segundo instar se trasladan al área de maduración, donde pasaran los siguientes cinco a siete días. Transcurrido ese tiempo, la mayoría de las ninfas deben estar entre el cuarto y el quinto instar, etapa de desarrollo ideal para ser parasitadas. Una vez que las ninfas lleguen a esos estadios, las plantas se trasladan al área de parasitación para su exposición a *T. radiata*.

Los ejemplares de *T. radiata* se deben colectar en campo, con el propósito de tener material adaptado a las condiciones ambientales de cada lugar. Los adultos colectados, así como los parasitoides que emergen de los brotes, deben ser examinados para corroborar que realmente se trata de *T. radiata*, para evitar la introducción de insectos no deseados que puedan contaminar el pie de cría.

Cría del parasitoide *Tamarixia radiata*

Es importante destacar que la obtención del parasitoide se realiza en una estructura protegida tipo invernadero, provista de trampas amarillas para capturar los psílicos que escapan.

En el invernadero, en cada una de las jaulas de cría, se colocan nueve plantas de *M. paniculata* infestadas con ninfas del psílido (N3-N5) a las que se introducen 50 adultos de *T. radiata* (figura 18a). En cada jaula se coloca miel pura en tiras de papel absorbente para prolongar la vida de los parasitoides (figura 18a). Según Senasica (2014), la humedad relativa mayor de 90,9% influye negativamente sobre el parasitismo de *T. radiata*.



Fotos: Takumasa Kondo y
Camila Yesenia García Córdoba

Figura 18. Proceso de parasitación. a. Jaula con *Tamarixia radiata* y ninfas de *Diaphorina citri* (recuadro) y tiras con miel; b. Ninfas del quinto instar parasitadas (momias) de *D. citri*; c. Pupa de *T. radiata* y meconio en la parte posterior de la ninfa de *D. citri*.

Corte de brotes con ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas

El tiempo adecuado para el corte de los brotes con ninfas parasitadas se determina mediante el monitoreo constante de las ninfas en la sala de parasitación. Por lo general, después del octavo o décimo día de ser expuestas las ninfas, se observa la presencia de meconios (excretas de la pupa de *T. radiata*) (figuras 18b y c). En ese momento se procede al corte de los brotes que contengan ninfas parasitadas, pero se trata de evitar hacer daño a la planta. Los brotes se colocan dentro de neveras de poliestireno expandido (icopor) para impedir su deshidratación y se transportan a la sala de extracción de los parasitoides (figura 19a).



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 19. Proceso de extracción y almacenamiento de *Tamarixia radiata*. a. Área de extracción de *T. radiata*; b. Brotes tiernos de mirto con ninfas de *Diaphorina citri* parasitadas con *T. radiata* en caja oscura; c. Colecta de parasitoides mediante un aspirador eléctrico, atraídos a la luz natural en cuarto oscuro; d. Nevecón industrial para conservación de los parasitoides.

Extracción y colecta del parasitoide *Tamarixia radiata*

Para la colecta del parasitoide se requiere una sala a 25 ± 2 °C y $60 \% \pm 2 \%$ HR con un fotoperiodo de 12:12 h, con un deshumidificador para controlar humedad del cuarto oscuro. Para la extracción se usan cajas de 50x50x50 cm, de color negro, con un orificio en cada cara de 10 cm de diámetro, cubierto con tela negra, para mantener una buena aireación y la oscuridad en el interior (figura 19b).

Cada caja tiene tres niveles en su interior, en los que se colocan los brotes con ninfas parasitadas (sobre papel periódico para la absorción de la humedad producida por los brotes y evitar un ambiente favorable para el desarrollo de hongos); se procura que no queden compactados. En el centro de los niveles uno y dos se perfora un orificio central para permitir el acceso de luz al nivel inferior. La colecta de parasitoides se puede realizar por medio de luz artificial o con ayuda de luz natural; en el caso de Corpoica solo se utiliza el segundo tipo debido a que los parasitoides tienen la capacidad de volar hasta la ventana de luz natural donde son recolectados. Sin embargo, en este protocolo se explican ambos procesos.

Recolecta de *Tamarixia radiata* por medio de luz natural

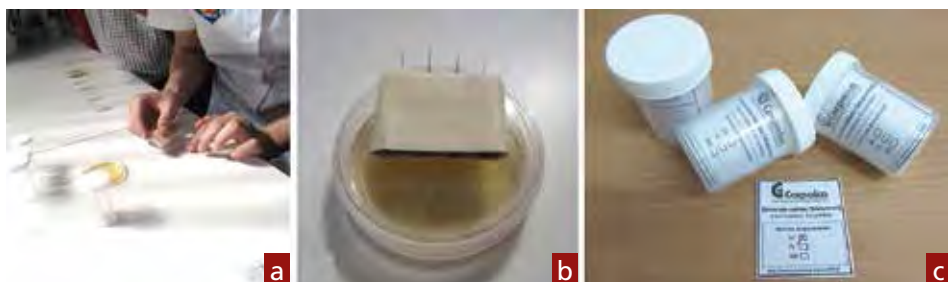
Esta técnica requiere una cámara con una ventana cerrada, para permitir la entrada de luz natural, lo cual posibilita que los insectos sean atraídos hacia ella (figura 19c). Está basada en la apertura de las cajas de extracción que contienen ninfas parasitadas para dejar escapar los parasitoides, que por medio del fototactismo positivo son atraídos hacia la luz de la ventana. Los insectos son aspirados con ayuda de un aspirador eléctrico (figura 19c) y contados posteriormente. Es recomendable colectar 50 parasitoides por tubo vial de 25 ml, 200 parasitoides en frascos de 100 ml, y 400 en frascos de 250 ml.

Recolecta de *Tamarixia radiata* por medio de luz artificial

En este caso, los parasitoides son colectados diariamente de los frascos con ayuda de un aspirador bucal conectado a una bomba de vacío con una presión de 15 cm Hg. El aspirador tiene ensamblado un tubo vial donde se capturan los parasitoides. Dentro del vial se coloca una etiqueta rotulada con la fecha de colecta y pequeñas gotas de miel para alimentar los parasitoides por el tiempo que se mantengan almacenados. Se realizan pequeños orificios en la tapa del tubo vial para permitir el flujo de oxígeno. Los parasitoides son aspirados y contados. Trascorridos diez días, la mayoría de los parasitoides emergen y se procede a la limpieza de las cajas; se retiran todos los brotes y el papel periódico. Posteriormente se aplica alcohol al 96% y con una franela se limpia el interior.

Almacenamiento de parasitoides

Los parasitoides obtenidos en el cuarto de emergencia pueden ser liberados inmediatamente después de ser colectados en las áreas donde se requiera o se pueden almacenar a una temperatura de 17 a 19 °C durante cinco a diez días como máximo (figura 19d). Mientras se mantienen almacenados, se deben alimentar cada tres días. Para ello se introducen en el tubo vial que los contiene pequeñas etiquetas con finas gotas de miel (figura 20a y c).

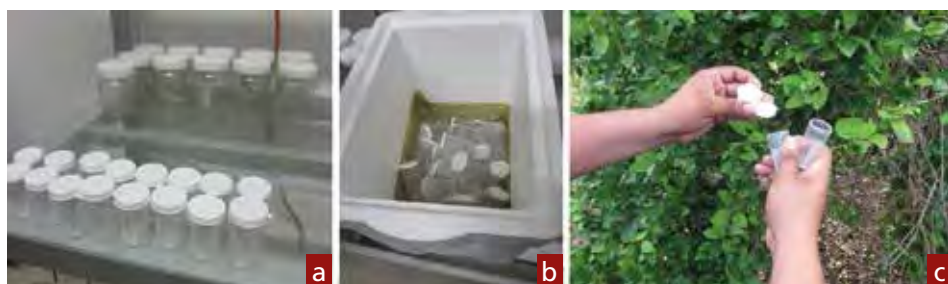


Fotos: Takumasa Kondo

Figura 20. Proceso de envase para envío de *Tamarixia radiata*. a. Etiqueta de información de parasitoides recolectados con cuatro líneas de miel pura; b. Dispositivo para la aplicación de miel pura sobre las etiquetas; c. Contenedores de plástico con etiquetas para el envío de parasitoides.

Empaque de parasitoides para liberación

Los adultos de *T. radiata* emergidos se colocan en cilindros de plástico (figura 21a) y son transportados en una nevera de poliestireno expandido (icopor) a los puntos de liberación (figura 21c). En la parte inferior del interior de la nevera, se colocan geles fríos envueltos en papel periódico para mantener fresca la nevera y evitar el contacto directo con los cilindros (figura 21b), ya que la humedad puede causar condensación de agua en la pared interior de ellos y los adultos parasitoides se pueden quedar pegados allí y morir. Posteriormente los cilindros debidamente etiquetados se colocan sobre los geles envueltos, se tapa la nevera y se verifica que quede bien sellada. Los cilindros deben quedar herméticos, pero también se debe considerar el intercambio gaseoso para evitar la condensación al interior del frasco, lo cual puede provocar la inmovilización o la muerte los parasitoides. Los individuos de *T. radiata* pueden estar almacenados en esas condiciones hasta por ocho días.



Fotos: Takumasa Kondo

Figura 21. Envío y liberación en campo de *Tamarixia radiata*. a. Tarritos con parasitoides listos para envío; b. Nevera de poliestireno expandido (icopor) con refrigerante en la base, papel periódico y cinta con tarritos de parasitoides con *T. radiata*; c. Liberación de parasitoides en campo.

Liberación, evaluación en campo y control de calidad del parasitoide *Tamarixia radiata*

Las liberaciones de *T. radiata* benefician directa e indirectamente a decenas de productores. El principal objetivo del proceso es apoyar y reforzar una estrategia que permite tratar áreas urbanas, huertos orgánicos y huertos abandonados donde la aplicación de plaguicidas es limitada. Además, se hacen ante la necesidad de incrementar las poblaciones de parasitoides presentes de manera natural en las áreas urbanas y agroecosistemas cítricos.

Está comprobado que los *T. radiata* incrementan el nivel de parasitismo natural en los puntos tratados (Senasica 2014). Por estas razones, se han realizado liberaciones aquellos reproducidos masivamente con el fin de recuperar las poblaciones abatidas por la aplicación de plaguicidas para el control de *D. citri*.

Según Senasica (2014), las liberaciones de *T. radiata* se deben realizar de acuerdo tres criterios básicos:

1. En los huertos donde se vaya a liberar, no se deben haber efectuado aplicaciones de plaguicidas en los dos meses anteriores al día escogido.
2. En el sitio de liberación deben estar presentes huevos o ninfas, preferiblemente las últimas de tercer estadio en adelante.
3. Los árboles de los huertos o de las áreas urbanas donde se vaya a liberar deben tener presencia de brotes jóvenes, lo que asegura la existencia de ninfas de *D. citri*.

En México, hasta 2014, las liberaciones fueron realizadas en áreas urbanas —en *Citrus* spp., y mirto— y en huertos productores de cítricos abandonados en los cuales no se aplicaban plaguicidas. De igual manera, en ese país, el uso del parasitoide en conjunto con otros medios biológicos como hongos entomopatógenos ha sido evaluado satisfactoriamente por Naranjo-Lázaro et al. (2013). Los autores indican que los hongos entomopatógenos *Isaria javanica* (Wize) A.H.S.Br. & G. Sm. con clave CNRCB-CHE 303, 305 y 307 y *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin, clave CNRCB-CHE, pertenecientes a la colección de hongos entomopatógenos del Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, más los coadyuvantes que se asperjan para el control de la misma plaga, no afectan de forma perjudicial a *T. radiata*, lo que posibilita su uso en un programa de control biológico compatible con el parasitoide.

Materiales, insumos y personal necesarios

Para la actividad de liberación de parasitoides en campo se requieren los siguientes materiales, insumos y personal:

- Mínimo dos personas (una para el manejo del GPS y el registro; otra para liberación de material en campo); ambos siempre se deberán mantener juntos en el recorrido por la huerta o área urbana
- Material biológico (parasitoide *T. radiata*)
- Dispositivo de geoposicionamiento global portátil (GPS)
- Formato para el registro de datos de liberación
- Libro de campo

- Lápiz
- Baterías o suministro de energía requerido para el dispositivo GPS portátil
- Nevera de poliestireno expandido (icopor)
- Gel refrigerante
- Termómetro
- Papel periódico

Los parasitoides deben estar en el lugar donde serán liberados un día antes de la fecha programada para la actividad. Debido a esto, es necesario trasladarlos por envío rápido, haciendo uso de los medios adecuados.

Durante el proceso de recepción de los ejemplares se deben seguir los pasos siguientes:

1. Localizar el predio, huerta o área urbana donde se realizará la liberación de los adultos de *T. radiata*.
2. Al recibir el paquete se deben verificar las condiciones del mismo, proporcionar ventilación y mantener a temperatura de 19 °C.
3. Es recomendable realizar la liberación en campo el mismo día en que se reciben los ejemplares o a más tardar un día después, siempre y cuando se pueda mantener el material biológico en las condiciones antes citadas.
4. Se debe elevar gradualmente la temperatura del material biológico a la del medio ambiente, para lo cual es preciso retirar el gel refrigerante de la nevera 10 a 20 minutos previos a la liberación.
5. El material biológico no se debe dejar sin refrigeración, directamente al sol o dentro de un vehículo cerrado o sin la supervisión de personal capacitado.
6. Los parasitoides se liberan cada 50 a 100 metros lineales, según el grado de infestación o la densidad de plantas hospederas presentes. Por ejemplo, si se observan más de 20 ninfas en promedio por brote/árbol, deberán liberarse 100 parasitoides cada 50 metros. Si, por el contrario, se observan 20 o menos ninfas en promedio por brote/árbol, se liberarán 100 individuos cada 100 metros.
7. En cada punto de liberación se destapan los contenedores bajo la sombra de una rama y se golpea ligeramente el frasco para ayudar la salida de los parasitoides.
8. Se debe realizar un registro de los datos de ubicación del lugar de liberación y las coordenadas geográficas marcadas en el GPS en un libro de campo.

Sandoval-Jiménez et al. (2013) y Senasica (2014) indican que la dispersión de *T. radiata* es de tipo agregada, con tendencia a desplazarse a favor del viento. Debido a ello, los autores citados recomiendan tomar en cuenta este factor previo a la liberación para mejorar la eficacia de la misma. Es importante evitar la liberación de los parasitoides en momentos en los que predominen ráfagas de viento o lluvias.

Muestreo para evaluación

En las áreas de liberación en zonas urbanas se realiza mediante muestreo. Se seleccionan diez plantas de cítricos o mirto por localidad, teniendo en cuenta una distancia de 50 a 100 metros entre las plantas hospederas. De cada planta evaluada se toman tres brotes tiernos al azar con un tamaño máximo de 10 cm de largo, con un mínimo de diez ninfas del tercer a quinto instar. Los brotes colectados en cada planta se colocan en frascos de plástico con tapa de rosca y capacidad de 250 ml o de ocho cm de altura con un diámetro de 5,5 cm.

Posteriormente se añade alcohol etílico al 70 % al frasco, se verifica que los brotes queden totalmente cubiertos y que las tapas queden bien selladas. Los frascos con los brotes se colocan en neveras de poliestireno expandido (icopor), selladas y aseguradas para evitar el derrame de alcohol. Cada muestra debe ser etiquetada con información sobre el sitio de colecta, tratamiento o testigo, número de muestra consecutiva, planta hospedera, fecha de muestreo y colector.

La muestra total por localidad o huerto estará conformada por diez frascos con tres brotes dentro (uno por cada planta muestreada). El sitio de ubicación de cada planta debe ser geoposicionado y registrado en libro de campo.

La evaluación en huertos abandonados u orgánicos se hace con la misma metodología y se toman al azar 30 brotes por hectárea. En ambos casos se determina el porcentaje de parasitismo según la fórmula que aparece en el subcapítulo *Porcentaje de parasitismo*.

Control de calidad

Dentro de las actividades de control de calidad en la cría de *T. radiata* se incluyen los parámetros de porcentaje de parasitismo, porcentaje de emergencia, proporción sexual y porcentaje de individuos deformes (Vizcarra-Valdez et al. 2013).

Porcentaje de parasitismo

El porcentaje de parasitismo se calcula mediante la toma del lote de producción de una muestra al azar de 30 brotes (de aproximadamente 5 a 10 cm de largo) de *M. paniculata* con ninfas de *D. citri* parasitadas por *T. radiata*. Los brotes se observan con un estereoscopio (10-45X), y se contabilizan y registran las ninfas parasitadas y las no parasitadas de cada uno de los brotes. Aquellas parasitadas se reconocen por la presencia de *T. radiata* en cualquiera de los estados de desarrollo (huevo, larva, prepupa y pupa) o por el conteo de las momias. Los datos obtenidos se analizan con la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de parasitismo} = \left(\frac{\text{Ninfas parasitadas}}{\text{total ninfas}} \right) * 100$$

Porcentaje de emergencia

La tasa de emergencia se determina a partir de una muestra semanal del mismo material utilizado en la prueba porcentaje de parasitismo. Los brotes se colocan dentro de una caja de extracción durante diez días. Diariamente los parasitoides emergidos se colectan con la ayuda de un aspirador bucal entomológico y se contabilizan y registran. El índice de emergencia se obtiene con la fórmula siguiente:

$$\text{Porcentaje de emergencia} = \left(\frac{\text{Adultos emergidos}}{\text{Ninfas parasitadas}} \right) * 100$$

Proporción sexual

La proporción de sexos se analiza semanalmente mediante toma de una muestra de 100 adultos de *T. radiata*, los cuales se observan con un estereomicroscopio (10-45X). Los adultos se colocan en una caja Petri de vidrio de 5,5 cm de diámetro sobre un gel refrigerante congelado para inmovilizarlos y facilitar su observación. Para determinar el sexo del parasitoide se observan las características morfológicas de las antenas (figura 3b y c). También, se puede observar que las hembras poseen el abdomen más grande, además de una mancha clara sobre las partes dorsal y ventral del abdomen, en comparación con el macho que carece de la mancha clara (Waterston 1922).

Una vez contabilizado y registrado el número total de machos y hembras observados, se procede a calcular la proporción de hembra a macho con la siguiente formula:

$$\text{Proporción sexual} = \text{Hembras observadas} / \text{Machos observados}$$

Porcentaje de individuos deformes

Para calcular el porcentaje de individuos deformes se toma una muestra de 100 individuos de la prueba de proporción sexual. Estos ejemplares se examinan con un estereoscopio (10-45X), se inspeccionan e identifican especímenes de *T. radiata* y se busca cualquier defecto o deformidad, por ejemplo, especímenes con apéndices (alas, antenas, patas) atrofiados o con malformaciones; coloración diferente de lo normal en el cuerpo, ojos o demás órganos, y tamaño irregular de los ejemplares. El número de individuos deformes es cuantificado y el porcentaje se calcula con la siguiente formula:

$$\text{Porcentaje de individuos deformes} = \left(\frac{\text{Individuos deformes}}{\text{Total de individuos observados}} \right) * 100$$

