

**DIRECCIÓN GENERAL DE SANIDAD VEGETAL  
CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA FITOSANITARIA**

**Área de Diagnóstico Fitosanitario  
Laboratorio de Entomología y Acarología**

**Protocolo de Diagnóstico:**  
*Argyrotaenia citrana* Fernald, 1889  
(Tortricido anaranjado)

**Tecámac, Estado de México, enero 2019**

**SENASICA nos protege a todos**



**SADER**  
SECRETARÍA DE AGRICULTURA  
Y DESARROLLO RURAL



**SENASICA**  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD,  
INOCUIDAD Y CALIDAD  
AGROALIMENTARIA



### **Aviso**

El presente protocolo de diagnóstico fitosanitario fue desarrollado en las instalaciones de la Dirección del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (CNRF), de la Dirección General de Sanidad Vegetal (DGSV) del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA), con el objetivo de diagnosticar específicamente la presencia o ausencia de *Argyrotaenia citrana*. La metodología descrita, tiene un sustento científico que respalda los resultados obtenidos al aplicarlo. La incorrecta implementación o variaciones en la metodología especificada en este documento de referencia pueden derivar en resultados no esperados, por lo que es responsabilidad del usuario seguir y aplicar el protocolo de forma correcta.

La presente versión podrá ser mejorada y/o actualizada quedando el registro en el historial de cambios.



## I. ÍNDICE

<b>1. OBJETIVO Y ALCANCE DEL PROTOCOLO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
2.1 Información sobre la plaga .....	1
2.2 Información taxonómica.....	2
2.3 Flujo de trabajo.....	3
<b>3. DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN .....</b>	<b>4</b>
3.1 Identificación de la Plaga .....	4
3.2 Consideraciones.....	4
3.3 Características morfológicas a observar bajo el microscopio estereoscópico .....	4
3.4 Método de preparación .....	5
3.4.1 Larva.....	5
3.4.2 Adulto.....	6
3.5 Preservación .....	7
<b>4. RESULTADOS DE VALIDACIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>5. REGISTROS .....</b>	<b>8</b>
<b>6. CONTACTO PARA INFORMACIÓN ADICIONAL .....</b>	<b>8</b>
<b>7. RECONOCIMIENTO.....</b>	<b>8</b>
<b>8. REFERENCIAS.....</b>	<b>8</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>10</b>

## II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Genital de <i>Argyrotaenia citrana</i> .....	10
Figura 2. Características morfológicas de la larva de <i>Argyrotaenia citrana</i> .....	11
Figura 3. Etiquetado de las estructuras de <i>Argyrotaenia citrana</i> .....	11
Figura 4. Etiquetado de los ejemplares preservados en alcohol al 70%.....	12

## 1. OBJETIVO Y ALCANCE DEL PROTOCOLO

Describir los procedimientos y metodologías aplicados en la identificación de ejemplares adultos e inmaduros de *Argyrotaenia citrana*, mediante el uso de claves taxonómicas y microscopía óptica. El siguiente protocolo ofrece una herramienta para los Terceros Especialistas de los Laboratorios Aprobados y técnicos de laboratorio de diferentes instituciones.

## 2. INTRODUCCIÓN

*Argyrotaenia citrana*, es una plaga no presente en México, de acuerdo a la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias No. 5, Glosario de términos fitosanitarios, esta cumple con la definición de plaga cuarentenaria. Con base en la NIMF No. 8 es una plaga transitoria: accionable bajo vigilancia (CIPF, 2006; SENASICA, 2013).

### 2.1 Información sobre la plaga

*A. citrana* es una especie polífaga con más de 80 hospederos, que dependiendo de las condiciones ambientales es bivoltina o multivoltina (Gilligan & Epstein, 2014). Se encuentra distribuida en Estados Unidos de América y está reportada para los estados de California, Oregón y Washington (CABI, 2018).

Las larvas causan un impacto económico al alimentarse de frutos en desarrollo como: cítricos, manzanas y uvas, también pueden alimentarse de tallos, lo que ocasiona la caída de frutos (Gilligan & Epstein, 2014).

El adulto de *A. citrana* es de color marrón oscuro o claro, presenta un par de franjas o manchones oscuros en las alas anteriores. Mide entre 6 a 10 mm, el macho es de menor tamaño en comparación con la hembra (Figura 1c) y éste posee un abdomen más delgado (Figura 1d) (Powell, 1964). Las larvas miden de 13 a 15 mm, su cápsula cefálica es de color marrón claro, con pigmentación oscura que se extiende hasta el área de las estegmatas muy cerca de la sutura posgenal. El escudo torácico y las patas van de una coloración amarilla a marrón, pero no tan oscuras como el resto del cuerpo. La placa anal puede ser parda o casi del mismo color del cuerpo. La pináculo de un tamaño medio y las setas son largas. Espínulas diminutas, que se aprecian fácilmente (Figura 2). El peine anal está completamente desarrollado (MacKay, 1962). Presentan de 5 a 7 instares en un periodo de 20 a 30 días, los huevos son colocados en la superficie lisa de las hojas, frutos, brotes y son aplanados y ovalados con reticulaciones. Estos se encuentran conglomerados en grupos de 7 a 80 huevos (Basinger, 1938).

## 2.2 Información taxonómica

**Nombre:** *Argyrotaenia citrana* (Fernald, 1889)

**Sinónimos:** *Argyrotaenia franciscana insulana* Powell, 1964

*Argyrotaenia kearfotti* Obraztsov, 1961

*Argyrotaenia purata*, Freeman, 1958

*Argyrotaenia citrana* Basinger, 1935

*Argyrotaenia purata* (Meyrick, 1932)

*Tortrix purata* Meyrick (in part), 1930

*Eulia franciscana*, Frost (not Walsingham, 1879), 1928

*Argyrotaenia franciscana*, Borden (not Walsingham, (1879), 1926

*Tortrix franciscana*, Essig (not Walsingham, 1879), 1926

*Cacoecia franciscana* Penny (not Walsingham, 1879), 1921

*Tortrix citrana* Fernald, 1889

*Tortrix franciscana* Walsingham, 1879

*Argyrotaenia franciscana* (Walsingham, 1879)

**Nombre común:** Tortricido anaranjado

**Posición taxonómica:**

**Reino:** Animalia

**Phylum:** Arthropoda

**Clase:** Insecta

**Orden:** Lepidoptera

**Familia:** Tortricidae

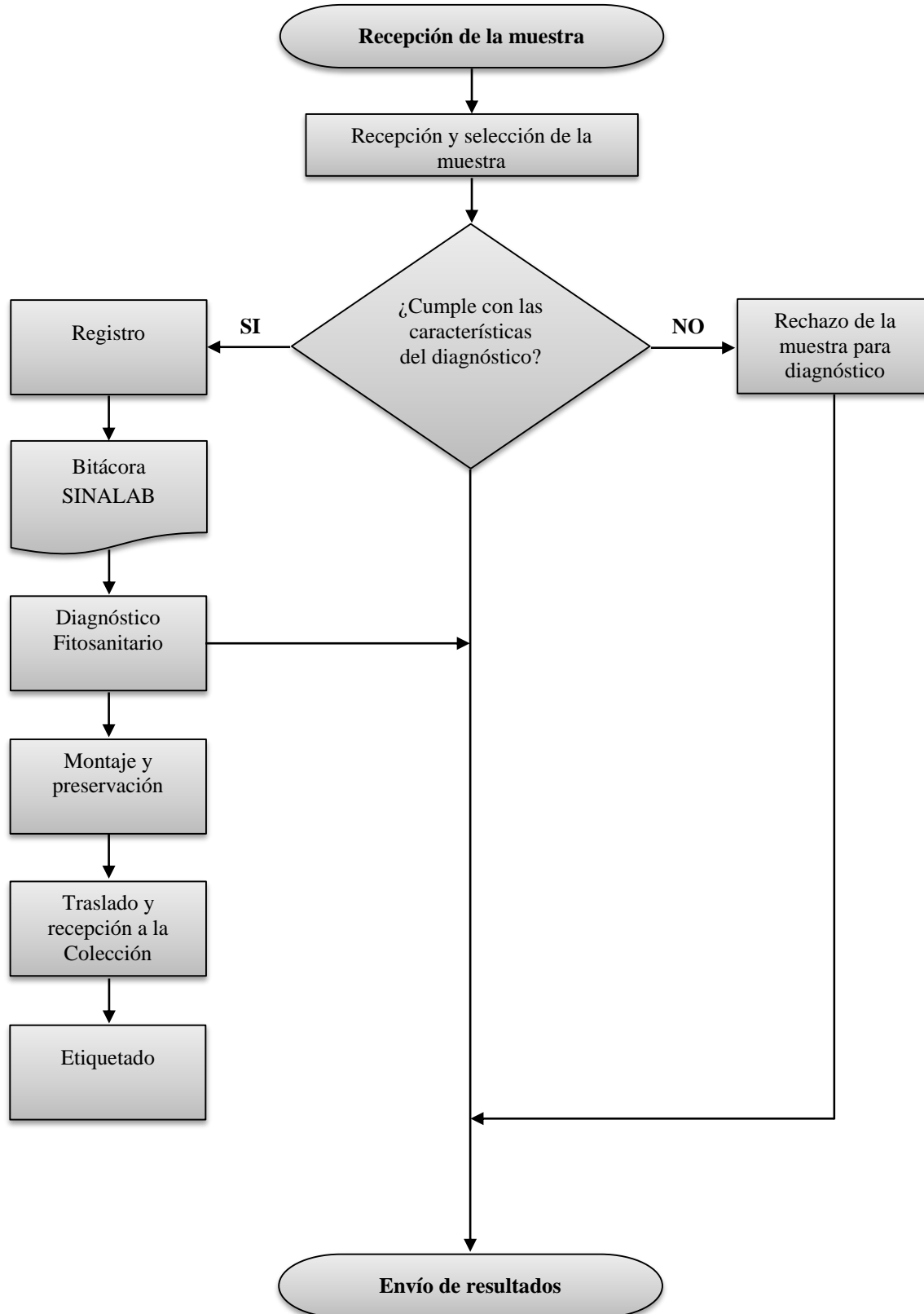
**Subfamilia:** Tortricinae

**Género:** *Argyrotaenia*

**Especie:** *Argyrotaenia citrana*

(Powell, 1964)

## 2.3 Flujo de trabajo



## 3. DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN

### 3.1 Identificación de la Plaga

La identificación del adulto de *A. citrana* se basa en caracteres morfológicos de la especie, mediante la observación en estereoscopio y montaje de los genitales del macho y la hembra, previamente tratados con la técnica de aclarado y montaje en laminilla, la cual consiste en eliminar el tejido membranoso y preservar únicamente las estructuras esclerosadas. Dicha técnica se basa en la reportada por Robinson (1976), con modificaciones realizadas por el personal técnico del Laboratorio de Entomología y Acarología del CNRF.

### 3.2 Consideraciones

Cuando el espécimen proviene de trampa pegajosa, es necesario tomar en cuenta que el ejemplar cumpla con las características del diagnóstico:

- a. Que los especímenes no estén dañados o aplastados.
- b. Que el abdomen se encuentre completo y en buen estado.

### 3.3 Características morfológicas a observar bajo el microscopio estereoscópico

Para la selección de especímenes pertenecientes a la familia Tortricidae, se deben observar las siguientes estructuras morfológicas (Gilligan et al., 2008; Gilligan & Epstein, 2014):

- a. Alas en reposo en forma de “campana”.
- b. La presencia de Chaetosoma (setas finas) a la altura del ocelo.
- c. Palpos labiales proyectados hacia el frente.
- d. Palpos maxilares reducidos.
- e. Probóscide sin escamas.

Para la separación a la subfamilia Tortricinae, se deben observar las siguientes estructuras morfológicas (Gilligan et al., 2008; Gilligan & Epstein, 2014):

- a. Las antenas poseen dos filas de escamas en cada segmento flagelar.

- b. La juxta y edeago generalmente se articulan en lugar de estar fusionados con los genitales masculinos.
- c. El esterigma generalmente está conectado con las apófisis anteriores de las hembras.
- d. Pecten cubital rara vez está presente.

### 3.4 Método de preparación

#### 3.4.1 Larva

Presenta una placa anal, que puede ser parda o casi del mismo color del cuerpo, pináculos de tamaño medio, espínulas diminutas, que se aprecian fácilmente. El peine anal es completamente desarrollado. Esta larva puede confundirse con larvas de *Pandemis pyrusana* por el daño realizado al fruto a pesar de ser muy similar en apariencia, la diferencia radica en el escudo protorácico.

Para su identificación, las larvas deben estar inmersas en alcohol al 70% y observar así detalladamente las estructuras requeridas en las claves taxonómicas.

**Nota:** es importante señalar que el ejemplar debe estar completamente sumergido en alcohol en posición lateral y con la cabeza a la izquierda del observador, evitando el brillo de la lámpara y la desecación del espécimen.

Para algunos casos es necesaria la extracción de la mandíbula:

- 1) Colocar el ejemplar en posición dorsal, completamente sumergido en el alcohol al 70%.
- 2) Con ayuda de la pinza entomológica sujetar la cabeza de la larva y con la aguja de disección separar la mandíbula del resto.
- 3) Una vez que la mandíbula se encuentra separada, sujetarla con la pinza entomológica y desprenderla.
- 4) Colocar en un portaobjetos de cristal, una gota de glicerina (preparación temporal).
- 5) Colocar la mandíbula en el portaobjetos de cristal y delicadamente colocar el cubreobjetos.
- 6) Visualizar en el microscopio, apoyándose en las claves taxonómicas (MacKay, 1962).



### 3.4.2 Adulto

Anteriormente *A. franciscana* y *A. citrana* eran consideradas especies separadas. Sin embargo, estudios concluyeron que son la misma especie, basados en datos moleculares (Landry et al., 1999).

Para la identificación de la especie se necesita la extracción del genital descrita por Robinson, (1976) y Gilligan (2014), tanto del macho como de la hembra.

- 1) Desprender con cuidado el abdomen completo del insecto, con la ayuda de una pinza entomológica.
- 2) Colocar en una caja Petri el abdomen y sumergirlo en gasolina blanca por 3 minutos, hasta que la estructura no presente pegamento de la trampa.
- 3) Transferir el abdomen en un tubo de ensaye que contenga solución de hidróxido de potasio KOH al 40 % (1cc).
- 4) Colocar el tubo de ensaye a baño maría por un periodo de 15 minutos y agitar levemente (hasta que la estructura se aclare).
- 5) Colocar el abdomen en una cápsula de porcelana y agregar agua destilada, tratando de cubrir en su totalidad el abdomen para realizar la disección:
  - a. Machos
    - Retirar la cápsula genital con ayuda de pinzas entomológicas.
    - Limpiar delicadamente la cápsula genital, retirando el tejido membranoso, tratando de abrir lateralmente las valvas y mantener completas las estructuras internas como el edeago, uncus, juxta, tegumen (Figura 1a).
  - b. Hembras
    - Retirar delicadamente la bursa copulatrix.
    - Limpiar los restos del tejido membranoso, tratando de mantener completas las estructuras internas como papila anal, ostiolo, apófisis anterior y posterior (Figura 1b).
- 6) Una vez obtenido el genital, realizar dos lavados más con agua destilada; en intervalos de 2 minutos cada uno.

- 7) Colocar el genital en una caja Petri con alcohol al 96%, por un periodo de 2 a 3 minutos.
- 8) Transferir el genital al aceite de clavo por un lapso de 10 minutos.
- 9) Colocar el genital en vista dorsal y con las valvas abiertas (macho) sobre un portaobjetos con una gota de Bálsamo de Canadá, evitando que se formen burbujas.
- 10) Colocar el cubreobjetos sobre la gota del Bálsamo de Canadá. Rotular la preparación.
- 11) Observar al microscopio, apoyándose de las claves taxonómicas (Obraztsov, 1961).

### 3.5 Preservación

Para obtener una preparación permanente de las estructuras de *A. citrana* con el medio de montaje Bálsamo de Canadá; se debe colocar el portaobjetos en una estufa de secado a temperatura óptima ( $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), durante un mes; posteriormente, limpiar, aplicar sellador (esmalte) en la periferia del portaobjeto y colocar las siguientes etiquetas (Figura 3):

**Izquierda:** familia, género, especie, nombre del autor que realizó la descripción, nombre y fecha de quien hizo la determinación, técnica de montaje.

**Derecha:** lugar de recolecta (país, estado, municipio), localidad y/o paraje, coordenadas geográficas, hospedero, fecha de recolecta, nombre del recolector.

Los ejemplares preservados en laminilla, previamente etiquetados, se colocan en un portalaminillas, mientras que los especímenes en alcohol al 70 %, se etiquetan con datos de colecta, taxonómicos y geográficos (Figura 4).

## 4. RESULTADOS DE VALIDACIÓN

Las técnicas de identificación descritas en el presente protocolo se encuentran revisadas y validadas por el Área de Validación de Protocolos (AVP) del CNRF.

El presente protocolo permite la identificación de *Argyrotaenia citrana* a nivel de género y especie en el estado larval y adulto, mediante caracterización morfológica y observación bajo el microscopio compuesto.

## 5. REGISTROS

Los ejemplares preservados en laminilla y los especímenes en alcohol al 70 %, deberán ser resguardados en un lugar adecuado, con sus respectivos datos de registros, evitando la exposición de luz natural y artificial, con humedad relativa no mayor a 50%.

## 6. CONTACTO PARA INFORMACIÓN ADICIONAL

**Correo:** lab.entomologia@senasica.gob.mx

**Teléfono:** 01 (52) 55 5905 1000, Ext. 51368 y 51370

## 7. RECONOCIMIENTO

Este protocolo fue elaborado por el Laboratorio de Entomología y Acarología (Hugo Enrique González García y Liliana Hernández Sosa) y editado por el Grupo DiaFi (Ariana Guadalupe Robles Zárate y Lizeth Guadalupe Durán Espinosa).

## 8. REFERENCIAS

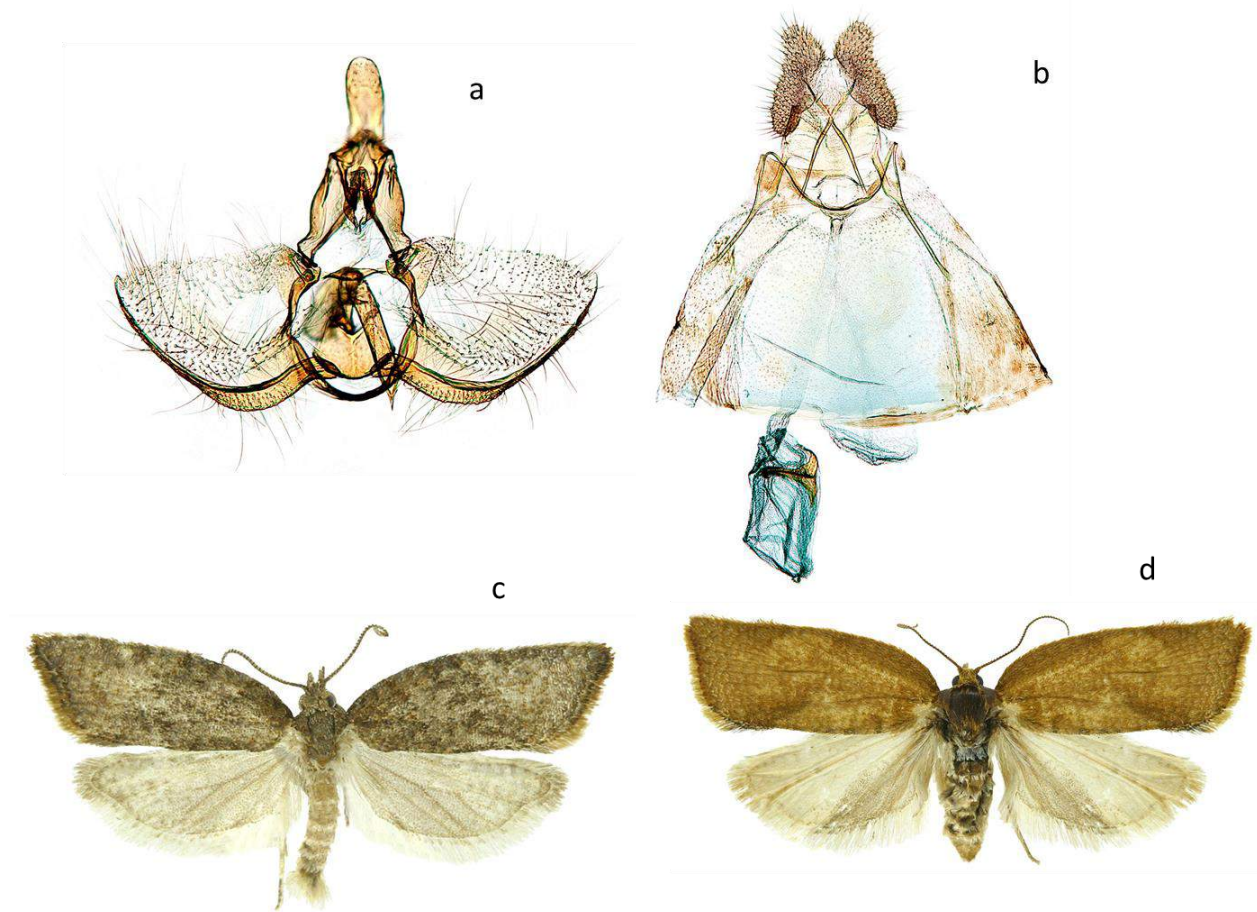
- Basinger A. J., (1938). The orange tortrix, *Argyrotaenia citrana*. *Hilgardia*, 11:635–665.
- CABI. (2018). Crop Protection Compendium. Recuperado el 20 agosto del 2018 de <https://www.cabi.org/isc/datasheet/6913>
- CIPF. (2006). Normas Internacionales para Medidas Fitosanitarias, Determinación de la situación de una plaga en un área. Publicación no. 8. Convención Internacional de Protección Fitosanitaria. FAO, Roma, Italia, 85–93p. Recuperado de <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/009/A0450S/A0450S00.pdf>
- Gilligan, T. M. and Epstein, M. E. (2014). Tortricids of Agricultural Importance by Interactive Keys developed in Lucid 3.5. Recuperado de <http://idtools.org/id/leps/tortai/>
- Gilligan, T. M., Wright, D. J. and Gibson, L. D. (2008). *Olethreutine Moths of the Midwestern United States. An Identification Guide*. Ohio Biological Survey Bulletin New Series. XVI (2): vii+ 334p.
- Landry, B., Powell, J. A. and Sperling, F. A. H. (1999). Systematics of the *Argyrotaenia franciscana* (Lepidoptera: Tortricidae) species group: evidence from mitochondrial DNA. *Annals of the Entomological Society of America*. 92: 40–46p.
- MacKay, M. R. (1962). Larvae of the North American Tortricinae (Lepidoptera: Tortricinae). *Canadian Entomologist*, 28: 182.
- Obraztsov, N. S. (1961) Descriptions of and Notes on North and Central American Species of *Argyrotaenia*, with the Description of a New Genus (Lepidoptera, Tortricidae). *American Museum Novitate*, 2048: 1–42.

- Powell, J. A. (1964). Biological and Taxonomic studies on Tortricine moths, with reference to the species in California. University of California Publications in Entomology, 32: 317.
- Robinson, G. S. (1976). The preparation of slides of Lepidoptera genitalia with special reference to the Microlepidoptera. *Entomologist's Gazette*, 27: 127–132p.
- SENASICA. (2013). Tortricido anaranjado *Argyrotaenia franciscana* (Walsingham). Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria-Dirección General de Sanidad Vegetal-Sistema Nacional de Vigilancia Fitosanitaria. Ciudad de México. Ficha técnica no. 22, 20p.

**Forma recomendada de citar:**

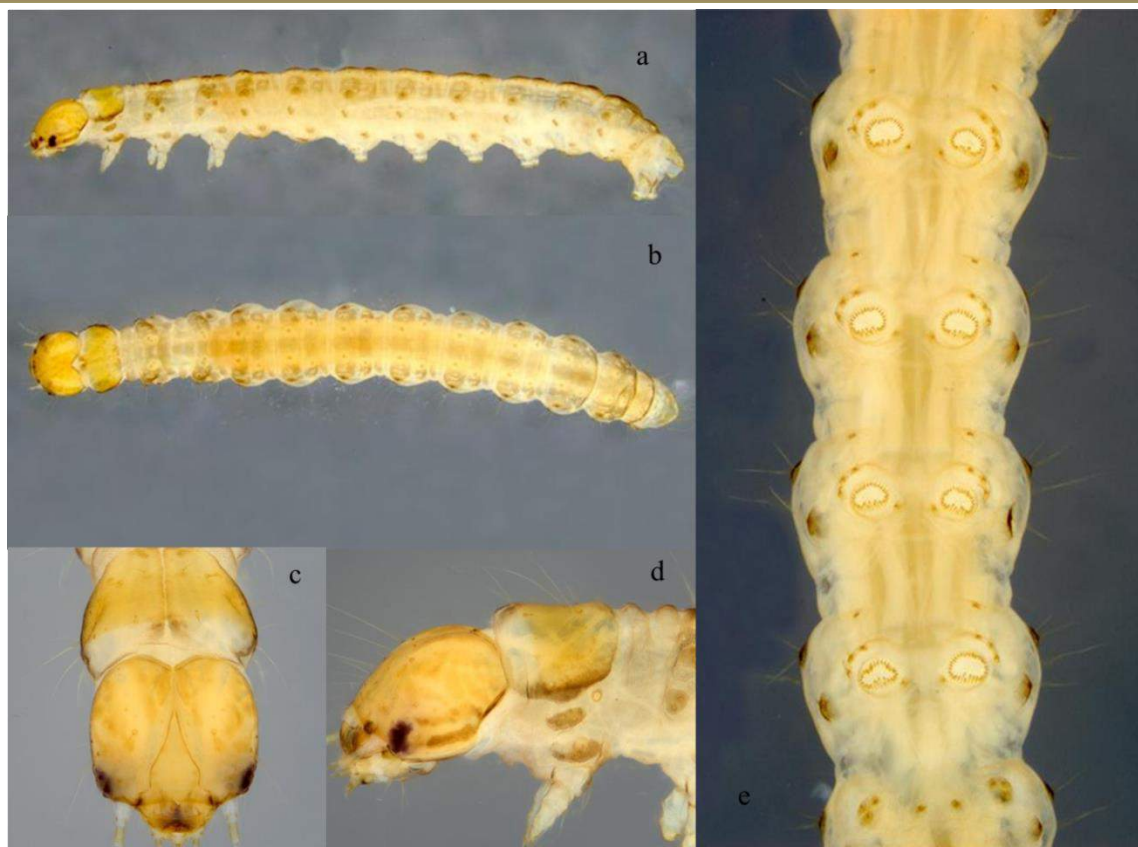
- SENASICA. Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. (2019). Protocolo de Diagnóstico: *Argyrotaenia citrana* Fernald, 1889 (Tortricido anaranjado) [Versión 1.0]. Tecámac, México: Autor.

## 9. ANEXOS



**Figura 1. Genital de *Argyrotaenia citrana* (Fernald, 1889).** a. Genital del macho; b. Genital de la hembra; c. Características morfológicas del macho; d. Características morfológicas de la hembra (Créditos: CABI, 2018).





**Figura 2. Características morfológicas de la larva de *Argyrotaenia citrana* (Fernald, 1889).** a. Vista lateral, b. Vista dorsal, c. Cabeza, vista dorsal, d. Cabeza, vista lateral, Segmentos abdominales, vista ventral (Créditos: CABI, 2018).

<p>Familia: Tortricidae Género: <i>Argyrotaenia</i> Especie: <i>Argyrotaenia citrana</i> Determinador: L. Portillo Fecha de determinación: 25/08/2014</p>		<p>Lugar de recolecta: México, Michoacán Hospedero: Trampa Fecha de recolecta: 16/09/2014 Recolector: A. Marín</p>
---	--	--

**Figura 3. Etiquetado de las estructuras de *Argyrotaenia citrana* (Fernald, 1889).**



**Figura 4. Etiquetado de los ejemplares preservados en alcohol al 70%.**