Longevidad y fecundidad de *Calophya latiforceps* (Hemiptera: Calophyidae), y su desarrollo en cuatro genotipos de la maleza *Schinus terebinthifolia* (Sapindales: Anacardiaceae)

Diego Moscoso Balanza

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras

2013-11-01

ZAMORANO DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Longevidad y fecundidad de *Calophya latiforceps* (Hemiptera: Calophyidae), y su desarrollo en cuatro genotipos de la maleza *Schinus terebinthifolia* (Sapindales: Anacardiaceae)

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Diego Moscoso Balanza

Zamorano, Honduras

2013-11-01

Longevidad y fecundidad de *Calophya latiforceps* (Hemiptera: Calophyidae), y su desarrollo en cuatro genotipos de la maleza *Schinus terebinthifolia* (Sapindales: Anacardiaceae)

Presentado por:							
Γ	Diego Moscoso Balanza						
Aprobado:							
Abelino Pitty, Ph.D. Asesor principal	Renan Pineda, Ph.D. Director Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria						
Rodrigo Diaz, Ph.D. Asesor	Raúl Zelaya, Ph.D. Decano Académico						
Veronica Manrique, Ph.D. Asesora							

Longevidad y fecundidad de *Calophya latiforceps* (Hemiptera: Calophyidae), y su desarrollo en cuatro genotipos de la maleza *Schinus terebinthifolia* (Sapindales: Anacardiaceae)

Diego Moscoso Balanza

Resumen: Schinus terebinthifolia Raddi fue introducida en Florida como planta ornamental a principios de 1800 pero no se consideró invasiva hasta principios de 1950. Estudios genéticos identificaron dos genotipos en Florida (A y B) y la mayoría de plantas son híbridos de estas dos poblaciones. Una nueva especie de psílido originaria de Bahia, Brasil, Calophya latiforceps Burckhardt (Hemiptera: Calophyidae), está siendo considerada como un agente de control biológico de S. terebinthifolia. Sin embargo, poco se conoce de la biología de este insecto fitófago. Este estudio evaluó la longevidad y fecundidad del psílido y su desarrollo en cuatro genotipos de S. terebinthifolia (A, B y hibridos de Florida, y K de Brasil). La fecundidad y longevidad de C. latiforceps se midieron en forma separada utilizando plantas de genotipo K. La fecundidad fue de 86 \pm 73 huevos, y la longevidad fue de 9.3 ± 3.5 días. En pruebas de opción múltiple, las hembras dejaron huevos en todos los genotipos de la maleza. Sin embargo, las plantas de S. terebinthifolia respondieron diferente al ataque del psílido, y fueron clasificadas como: 1) hipersensitivas (necrosis y sin formación de agallas), 2) resistentes (baja sobrevivencia de agallas) y 3) susceptibles (alta sobrevivencia de agallas). Las plantas de genotipos K y B fueron hipersensitivas y susceptibles, las plantas de genotipos A e híbrido fueron hipersensitivas, resistentes y susceptibles. El desarrollo de C. latiforceps fue de 28.3 días, 30.4 días, 30.4 días y 37.4 días para los genotipos B, A, híbrido y K, respectivamente. La sobrevivencia fue de 55%, 23%, 2% y 36% para los genotipos B, A, híbrido y K, respectivamente. La sobrevivencia de las ninfas fue afectada por el genotipo de la planta. La mortalidad incrementó en los genotipos A e híbridos respecto a B en 1.19 y 1.22 veces, respectivamente. Debido a que el genotipo B fue el mejor hospedero de C. latiforceps, la colonización y el establecimiento de este agente podría ser favorecido en la costa este de Florida. La alta fecundidad y la falta de discriminación entre genotipos de S. terebinthifolia al momento de la oviposición sugieren que C. latiforceps pueda adaptarse a todos los genotipos presentes en Florida. De acuerdo a este estudio, se puede concluir que C. latiforceps tiene un alto potencial como agente de control biológico de S. terebinthifolia.

Palabras clave: Brazilian peppertree, control biológico clásico, hipersensitividad, insecto agallador, maleza, psílido, resistencia, susceptibilidad.

Abstract: Schinus terebinthifolia Raddi was introduced to Florida as an ornamental plant in the 1800's, and it was considered invasive at the beginning of the 1950's. Genetic studies identified two genotypes in Florida (A and B) and most of the plants are hybrids of these two genotypes. A new psyllid species originary from Bahia, Brasil, Calophya latiforceps Burckhardt (Hemiptera: Calophyidae) is being considered as an agent of biological control of S. terebinthifolia. Not much is known about the biology of this insect. This study tested the longevity and fecundity of the psyllid and its development in

four genotypes of S. terebinthifolia (A, B and hybrids of Florida, and K of Brazil). Fecundity and longevity of C. latiforceps were measured separately using plants of K genotype. The fecundity obtained was 86 ± 73 eggs; the longevity obtained was 9.3 ± 3.5 days. Females laid eggs in all the genotypes of the weed in the multiple choice test. However, plants of S. terebinthifolia had a different response to the psyllid colonization. these responses were classified as: 1) hypersensitive (necrosis without gall formation), 2) resistant (low survival of nymphs) v 3) susceptible (high survival of nymphs). Plants of K and B genotypes were hypersensitive and susceptible, plants of A and hybrid genotypes were hypersensitive, resistant and susceptible. C. latiforceps development lasted 28.3 days, 30.4 days, 30.4 days and 37.4 days for B, A, hybrid and K genotypes, respectively. Survival was or 55%, 23%, 2% and 36% for B, A, hybrid and K genotypes, respectively. Nymph survival was affected by plants genotype. Mortality increased in A and hybrid genotypes compared to B genotype by 1.19 and 1.22 times, respectively. Because B genotype was the best host for C. latiforceps, the colonization and establishment of this agent could be favored in Florida's east coast. C. latiforceps' high fecundity and the absence of discrimination between genotypes of S. terebinthifolia when oviposition occurs suggest that the agent could adapt to all genotypes in Florida. According to this study, C. latiforceps has a high potential as a biological control agent of S. terebinthifolia.

Keywords: Brazilian peppertree, classic biological control, hypersensitivity, galling insect, psyllid, resistance, susceptibility, weed.

CONTENIDO

	Portadilla	i
	Portadilla	ii
	Resumen	iii
	Contenido	v
	Contenido	vii
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	4
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	8
4.	CONCLUSIONES	15
5.	RECOMENDACIONES	16
6.	LITERATURA CITADA	17
7.	ANEXOS	20

INDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cu	adros Página
 2. 	Porcentaje de plantas hipersensitivas, resistentes y susceptibles en cuatro genotipos de <i>S. terebinthifolia</i>
Fig	guras Página
	Estadios de <i>Calophya latiforceps</i> : (a) huevo, (b) ninfa y (c) adulto
3.	Curva de sobrevivencia de Kaplan-Meier de <i>C. latiforceps</i> en el genotipo K de <i>S. terebinthifolia</i> . La banda gris muestra el periodo de eclosión de huevos y la flecha muestra el primer día de emergencia de adultos. Las plantas hipersensitivas no se incluyeron en la gráfica.
4.	Proporción de huevos depositados \pm error estándar por hembras de <i>C. latiforceps</i> en cinco genotipos de <i>S. terebinthifolia</i> bajo condiciones de opción múltiple (G = 403.3 ; df = 3 ; $P < 0.001$).
5.	
6.	Tiempo de desarrollo de ninfa a adulto (a) y longitud del adulto (b) de <i>C. latiforceps</i> en diferentes genotipos de <i>S. terebinthifolia</i> estimados con la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la comparación múltiple de Dunn (Zar 2010). Las letras mayúsculas indican el genotipo y diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre genotipos (P < 0.05). Se usaron 7, 26, 19 y 47

	réplicas para hembras y 3, 32, 18 y 53 para machos en cuanto a la longitud del adulto en los genotipos A, B, híbridos y K respectivamente
Ar	nexos Págin
1.	Fotografías de agallas y ninfas de <i>C. latiforceps</i> en plantas hipersensitivas en: (a1) y (a2) genotipo A; (b1) y (b2) genotipo B; (h1) y (h2) genotipo híbrido, presentes en Florida. Nótese el color negro de la necrosis en las células donde la ninfa se alimentó.
2.	Fotografías de agallas y ninfas de <i>C. latiforceps</i> en plantas de resistentes genotipo A. (a) agallas sin necrosis, (b) ninfa muerta dentro de la agalla, (c) agallas abandonada con necrosis al contorno y (d) exuvia de un adulto emergido de agalla con necrosis al contorno.
3.	Fotografías de agallas y ninfas de <i>C. latiforceps</i> en plantas del genotipo B. (a) agalla abandonada sin necrosis, (b) ninfa con desarrollo normal a pesar de tejido necrótico al contorno, (c) agalla abandonada con necrosis al contorno y (d) exuvia de un adulto emergido de agalla con necrosis al contorno
4.	Fotografías de agallas y ninfas de <i>C. latiforceps</i> en plantas resistentes del genotipo híbrido donde (a) agalla sin necrosis, (b) ninfa con desarrollo normal a pesar de tejido necrótico al contorno, (c) agalla abandonada con necrosis al contorno y (d) exuvia de un adulto emergido de agalla con necrosis.
5.	Resistencias sin tejido necrótico encontradas en los diferentes genotipos de <i>S. terebinthifolia</i> (a) genotipo A, (b) genotipo B, y (c) genotipo híbrido

1. INTRODUCCIÓN

Las especies exóticas invasivas causan problemas ambientales y económicos a nivel mundial. Solamente en Estados Unidos se estiman costos de 120 mil millones de dólares en daños y control de estos organismos (Pimentel 2005). Este valor podría multiplicarse si se pudiese cuantificar monetariamente la pérdida de biodiversidad y de servicios proporcionados por los ecosistemas, la extinción de especies y el cambio estético de paisajes (Pimentel 2005). La invasión de plantas puede alterar el patrón de incendios, el ciclo de nutrientes, la hidrología del lugar y disminuir la abundancia o sobrevivencia de las especies nativas (Mack *et al.* 2000).

La maleza exótica *Schinus terebinthifolia* Raddi (Sapindales: Anacardiaceae) es una planta leñosa perenne, nativa de Argentina, Paraguay y Brasil (Barkley 1944; 1957). Este árbol fue introducido en Florida como planta ornamental a principios del 1800 y no fue hasta el año 1950 que se lo reportó como invasivo en áreas naturales; desde entonces se ha proliferado hasta cubrir aproximadamente 280,000 ha en Florida (Cuda *et al.* 2006). Además está presente en los estados de California, Texas y Hawái (Cuda *et al.* 2006). Existen más de diez genotipos de *S. terebinthifolia* en Brasil, no obstante solo dos de estos fueron introducidos en Florida; el genotipo "A" en la costa oeste (Punta Gorda) y el genotipo "B" en la costa este (Miami). En la actualidad, la mayor parte de la invasión en Florida está compuesta por híbridos de estos dos genotipos (Williams *et al.* 2005).

Schinus terebinthifolia forma monocultivos desplazando la vegetación nativa en Florida, Hawái y California, afectando así varios niveles tróficos. Además, la ingestión de esta planta puede ser dañina para algunos mamíferos y aves por su alto contenido de compuestos tóxicos en la corteza de hojas y frutos (Cuda *et al.* 2006).

El costo de control of *S. terebinthifolia* es muy alto en Florida debido al uso de maquinaria y herbicidas en lugares poco accesibles. El Departamento de Protección Ambiental de Florida (FLDEP) gastó \$0.5 millones de dólares para controlar *S. terebinthifolia* con herbicidas en aproximadamente 1000 ha entre los años 2002 y 2003 y el costo de control químico asciende aproximadamente a \$600 dólares por hectárea (Cuda *et al.* 2006). Los controles mecánico y químico no son adecuados para algunas áreas como manglares o bosques naturales porque podrían causar efectos negativos en el ecosistema (Cuda *et al.* 2006). Es por ello, que el control biológico podría cumplir un papel crítico en el manejo integrado de *S. terebinthifolia* (Cuda *et al.* 1999).

El control biológico clásico es la importación y liberación de enemigos naturales con el objetivo de reducir las densidades de una plaga. El control biológico clásico es una

excelente alternativa para zonas naturales de difícil acceso, ya que una vez que se establece el agente, este ofrecería un control permanente (Van Driesche *et al.* 2010). No obstante, otras prácticas de manejo, como cambio en el uso de la tierra, pastoreo, manipulación de nutrientes o agua, suelen ser integradas con el control biológico para obtener un manejo más sustentable de plantas invasivas (Van Driesche *et al.* 2010).

Varios agentes de control biológico de *S. terebinthifolia* han sido evaluados, sin embargo, ninguno ha sido liberado en Estados Unidos debido a que estos se desarrollaron en plantas no objetivo de importancia ecológica y económica (Mc Kay *et al.* 2012; Rendon *et al.* 2012; Oleiro *et al.* 2011).

Durante un viaje de exploración en Bahía, Brasil en el 2010, se descubrió un nuevo herbívoro de *S. terebinthifolia*, que luego fue descrito y denominado *Calophya latiforceps* Burckhardt (Hemiptera: Calophyidae) (Fig.1). Este insecto forma agallas en las hojas de *S. terebinthifolia* (Burckhardt *et al.* 2011). Los insectos agalladores inyectan toxinas a través de la saliva mientras las ninfas se alimentan, provocando toxemia manifestada en necrosis, enrollamiento de las hojas, formación de agallas y en algunos casos marchitez de la planta hospedera (Hodkinson 1974).

Los insectos agalladores establecen una íntima relación fisiológica con el hospedero al iniciar el proceso de formación de la agalla inyectando amino ácidos y promotores de crecimiento, alterando el ambiente de las células en el punto de inyección y provocando cambios osmóticos (Raman 2011). La degeneración del tejido vegetal cuando el agallador se desarrolla causa estrés en la planta (Raman 2011). Aproximadamente el 90% de insectos agalladores son específicos a su planta hospedera, un porcentaje mucho más alto en comparación con insectos que no forman agallas (Raman 2011).

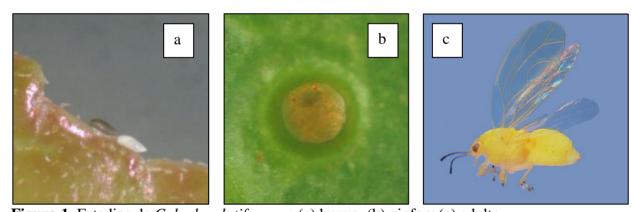


Figura 1. Estadios de *Calophya latiforceps*: (a) huevo, (b) ninfa y (c) adulto.

La mayoría de las especies del género *Calophya* Löw han sido reportadas como específicas a una sola especie de la familia Anacardiaceae (Burckhardt y Basset 2000). A pesar de la alta especificidad del género *Calophya*, poco se conoce de la biología de *C. latiforceps* y de su potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolia*.

Varios estudios han demostrado que algunos insectos herbívoros presentan una variación en sus desempeños según el genotipo de *S. terebinthifolia* en el que se desarrollan (Cuda *et al.* 2011). El objetivo de este trabajo fue entender la biología y desempeño de *C. latiforceps* en tres genotipos presentes en Florida y en el genotipo K presente en Bahía, Brasil. Los objetivos específicos fueron determinar la longevidad y fecundidad de los adultos de *C. latiforceps* en el genotipo original (K) y comparar la sobrevivencia y desarrollo de los inmaduros en los diferentes genotipos presentes in Florida.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Cría de *C. latiforceps*. Los adultos de *C. latiforceps* fueron recolectados en *S. terebinthifolia* (genotipos K o B) en la ciudad de Salvador, en el estado de Bahía, Brasil en septiembre de 2011. Se estableció una colonia del psílido en la cuarentena de la Universidad de Florida en el Indian River Research and Education Center (IRREC), en la ciudad de Fort Pierce, Florida.

La crianza de *C. latiforceps* se realizó en plantas de genotipo K originarias de Salvador, las cuales se mantuvieron en jaulas para insectos $(50 \times 50 \times 100 \text{ cm})$ en invernaderos de la cuarentena (Fig. 2a). La temperatura y humedad de estos invernaderos fluctuaron entre 22 y 28°C, y 30 y 60%, respectivamente. Las plantas fueron rociadas con agua atomizada dos a tres veces por semana para mantener una alta humedad relativa y evitar que las ninfas se sequen. Los adultos emergidos se utilizaron para los experimentos y para mantener las colonias.

Cría de *S. terebinthifolia*. Las plantas de genotipos A, B, híbrido A e híbrido B se obtuvieron de semillas de *S. terebinthifolia* recolectadas en varios lugares de Florida. Las plantas de genotipo K se obtuvieron de semillas importadas desde Salvador, Brasil.

Todas las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero descritas anteriormente. Se utilizó como medio de cultivo un suelo para jardinería Fafard 3B mix¹ (50% Peat moss, perlita, nutrientes iniciadores, piedra dolomita, corteza de pino procesada, vermiculita, agentes absorbentes). Las plantas se fertilizaron mensualmente con un fertilizante líquido (24N-8P-16K, Miracle Gro®²) y se regaron de dos a tres veces por semana. Para controlar las plagas, las plantas se rociaron tres veces por semana con una mezcla de aceite, jabón, alcohol y agua (28 ml de cada producto disueltos en 3.7 L. de agua) antes de ser utilizadas para los experimentos.

Fecundidad de C. latiforceps. La cantidad de huevos que deja una hembra se determinó en plantas de S. terebinthifolia genotipo K. El experimento se realizó en los invernaderos de cuarentena descritos anteriormente. Las plantas utilizadas (30 cm de alto) se podaron y se dejaron cinco a seis brotes por planta para facilitar la búsqueda de huevos. Cada brote fue cubierto por una jaula construida con una bolsa plástica de un cuarto de galón con una malla de un lado para dejar que el aire circule (bolsa-malla).

² Scotts-Miracle Gro Co. 14111 Scottslawn Road Marysville, Ohio 43041, Estados Unidos.

¹ Fafard, Inc. P.O. Box 790, Agawam, Massachusetts 01001, Estados Unidos.

Los adultos recién emergidos se colocaron en un tubo plástico (h=7 cm, d=2.5 cm) por cuatro horas para asegurar su apareamiento, y luego una pareja fue liberada en cada bolsamalla (Fig. 2b). Se contaron los huevos depositados en el nuevo brote con la ayuda de una lupa el día de la muerte de la hembra. El número de réplicas fue de 20 hembras. El número de huevos por hembra se comparó entre brotes mediante la prueba *t*. Se tomó la desviación estándar como medida de variabilidad al igual que en los demás experimentos. Los resultados fueron analizados con el programa "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.1[®]).

Longevidad de adultos de *C. latiforceps*. Para determinar la longevidad de adultos, se utilizaron plantas de *S. terebinthifolia* genotipo K de 30 cm de alto aproximadamente. Se podaron las plantas y se dejaron cinco a seis brotes por planta. Estos se cubrieron con una bolsa-malla (descrita previamente) (Fig. 2b).

Los adultos se recolectaron de las colonias, asegurándose que no tengan más de 12 horas de haber emergido. Se capturaron con aspiradores para insectos y se sexaron bajo el estereoscopio según la forma de los últimos segmentos de su abdomen (Burckhardt *et al.* 2011). Los adultos se liberaron individualmente en una bolsa-malla y fueron observados todos los días hasta el día de su muerte. El experimento se llevó a cabo en las condiciones de laboratorio descritas anteriormente. Se comparó la longevidad entre machos y hembras con una prueba *t*. Los resultados fueron analizados con el programa "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.1[®]).

Desarrollo y sobrevivencia de inmaduros de *C. latiforceps.* Para determinar el tiempo de desarrollo y sobrevivencia de los inmaduros, se siguió grupos de huevos en plantas de *S. terebinthifolia* genotipo K (10 réplicas). Se liberaron adultos (30 por planta) dentro de cilindros plásticos (h=45 cm, d= 15cm) (Fig. 2d), luego de 24 a 48 horas los adultos fueron removidos usando un aspirador. Las plantas utilizadas tenían 2 a 4 brotes nuevos sin daño. Las plantas fueron transferidas a jaulas para insectos ($50 \times 500 \times 100$ cm) con suficiente espacio para el crecimiento de la planta (Fig. 2a). Se seleccionaron y marcaron dos hojas por planta para medir cada dos días: 1) número de huevos, 2) número de ninfas vivas y 3) número de adultos emergidos, y determinar: 1) días hasta eclosión de huevo, y 2) días hasta la emergencia de adultos.

El sexo de los adultos emergidos se determinó utilizando un estereoscopio y observando la forma de los últimos segmentos del abdomen (Burckhardt *et al.* 2011). El tamaño de los adultos fue cuantificado mediante fotografías tomadas en estereoscopio a 32X analizadas con el software imageJ. El experimento culminó cuando ya no se encontraron más ninfas en las hojas marcadas, ya sea por muerte o por cambio de estadio a adulto.

El promedio de la mortalidad de ninfas se determinó con el análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier 1958), los resultados se analizaron con el programa JMP[®]. El tiempo de desarrollo se comparó entre 10 plantas usando un análisis de varianza (ANDEVA). Para medir la relación entre la calidad del hospedero y la sobrevivencia de huevo a adulto de *C. latiforceps* se realizó una correlación entre la longitud de la hoja y el

porcentaje de sobrevivencia de huevo a adulto por hoja. Para determinar si la proporción hembras por macho es 50:50 se usó la prueba Chi cuadrado. Se comparó el tamaño de hembras y machos mediante ANDEVA. El experimento se realizó en las condiciones de invernadero descritas. Los resultados fueron analizados con el programa "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.1[®]).

Desarrollo de *C. latiforceps* en genotipos *S. terebinthifolia* presentes en Florida. Para determinar si *C. latiforceps* puede iniciar agallas y desarrollarse en los genotipos de Florida se siguió la sobrevivencia de grupos de huevos en plantas A, B, híbrido, y plantas de Brasil K como control. Las plantas contaron con dos a cuatro brotes nuevos sin daño. Adultos de las colonias se recolectaron con un aspirador y se liberaron en cilindros plásticos (30 adultos por planta) (h=45 cm, d=15 cm) (Fig. 2d). Luego de 24 - 48 horas, se removieron los adultos y las plantas se colocaron en jaulas ($50 \times 50 \times 100$ cm). Usando una lupa (magnificación 40X) se contaron el número total de huevos en cada hoja.

Luego de establecerse las ninfas en un sitio permanente, se seleccionaron dos hojas por planta y un foliolo por hoja. Se siguió el desempeño de cada ninfa en los foliolos seleccionados cada tres días hasta su muerte o cambio de estadío a adulto. El tamaño de los adultos se midió con fotografías tomadas en estereoscopio a 32X con el software ImageJ.

Las observaciones de la respuesta de la planta al ataque de las ninfas se realizaron con una lupa de 40X. Se usó nueve replicas (plantas) por genotipo. La mortalidad de ninfas entre genotipos fue comparada con el análisis de sobrevivencia de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier 1958), los resultados se analizaron con el programa JMP[®]. Se determinó si el genotipo afectó la sobrevivencia utilizando el modelo de riesgo proporcional de Cox (Cox 1972). También se determinó si el genotipo de la planta afectó al tiempo de desarrollo de la ninfa y al tamaño del adulto con la prueba Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis 1952). Los resultados fueron analizados con el programa "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.1[®]).

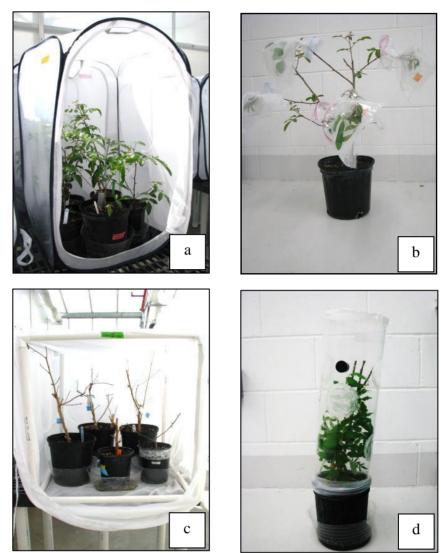


Figura 2. Materiales utilizados para los diferentes experimentos de *C. latiforceps*: (a) jaula para insectos con plantas de *S. terebinthifolia*, (b) bolsas-malla en brotes de *S. terebinthifolia*, (c) jaula amplia para insectos con plantas de *S. terebinthifolia* y (d) cilindro de acrílico.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fecundidad de *C. latiforceps*. Las hembras de *C. latiforceps* dejaron un promedio de 86 \pm 73 huevos (n = 20) (promedio \pm desviación estándar). Este valor es 1.6 y 1.7 veces mayor que lo reportado en *Calophya terebinthifolii* Burckhardt y Basset (Hemiptera: Calophyidae) (55.3 \pm 8.9 huevos/pareja) (Christ *et al.* 2013) y *Calophya schini* Tuthill (Hemiptera: Calophyidae) (50 huevos/pareja) (Alvarez y Cibrian 1999), respectivamente. No hubo correlación entre los días que vivió la hembra y los huevos que dejó (corr = 0.13, P = 0.6); las hembras ovipositaron entre 18 y 211 huevos/hembra.

La fecundidad de la superfamilia Psylloidea varía mucho entre especies del mismo género, y la variación también se da dentro de la misma especie bajo diferentes condiciones climatológicas, y condiciones de la planta hospedera (Hodkinson 2009). Esta característica explicaría la diferencia en promedio de huevos depositados/hembra de *C. latiforceps* comparada con *C. terebinthifolii* y *C. schini*. Por otro lado, la media obtenida pudo estar sesgada debido a que los adultos fueron manipulados para montar el experimento y las bolsas-malla pudieron dar condiciones no ideales para *C. latiforceps*. Este estrés pudo influir en la alta variabilidad de los resultados y posiblemente la fecundidad de *C. latiforceps* sea mayor que la reportada en este estudio. Una alta tasa reproductiva de *C. latiforceps* sería favorable para el proceso de adaptación y colonización en Florida.

Longevidad de adultos de *C. latiforceps*. La longevidad entre machos y hembras no tuvo diferencias significativas en (F = 0.2; g.l. = 1; P = 0.625;), se obtuvo 9.3 ± 3.5 días de sobrevivencia para hembras y machos. La curva de sobrevivencia *C. terebinthifolii* muestra una mortalidad concentrada entre el día 7 y 8 (Christ *et al.* 2013), lo que implica que los adultos de *C. latiforceps* viven entre 1.2 y 1.3 veces más que los de *C. terebinthifolii*.

Desarrollo y sobrevivencia de inmaduros de *C. latiforceps*. La curva de sobrevivencia de Kaplan-Meier presentó una sobrevivencia de huevo a ninfa de 94% y de huevo a adulto de 36%. (Fig. 4). El tiempo de desarrollo del huevo fue de 8.2 ± 1.8 días (n = 748) y el tiempo requerido para completar el desarrollo fue de 37.4 ± 0.2 días sin diferencias significativas entre plantas (n = 283). Dos de los doce árboles presentaron hipersensitividad, causando necrosis rápida y localizada en el punto de infección y el tejido adyacente a los dos o tres días luego de la eclosión del huevo.

Hubo una alta variabilidad de sobrevivencia de inmaduros entre repeticiones, variando entre el 15% y 90%. La longitud final de las hojas con inmaduros varió entre 1.8 a 8.6 cm. Hubo una correlación positiva entre sobrevivencia de inmaduros y la longitud de hojas (corr = 0.73; P < 0.01).

El crecimiento de las hojas pudo ser afectado por el vigor de la planta, nutrición, y presencia de plagas (ácaros, thrips). *Calophya latiforceps* tuvo una mayor sobrevivencia en hojas más grandes. De la misma manera, el agallador de hojas *Adelges abietis* L. (Hemiptera: Adelgidae) presentó una correlación entre la sobrevivencia de adultos y la longitud de la hoja de su hospedero *Picea glauca* Moench (Pinales: Pinaceae) (Flaherty y Quiring 2008). Sin embargo, no hubo correlación entre la longitud de la hoja y los días promedio a emergencia del adulto de *C. latiforceps* (corr = 0.33; P = 0.172).

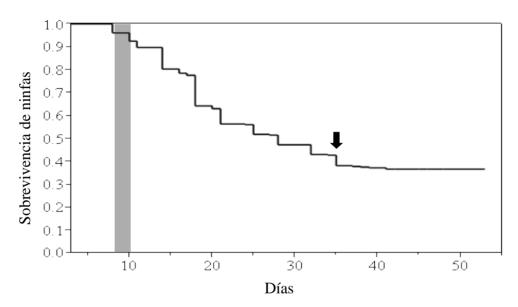


Figura 3. Curva de sobrevivencia de Kaplan-Meier de *C. latiforceps* en el genotipo K de *S. terebinthifolia*. La banda gris muestra el periodo de eclosión de huevos y la flecha muestra el primer día de emergencia de adultos. Las plantas hipersensitivas no se incluyeron en la gráfica.

Emergieron un total de 191 hembras y 171 machos de 10 réplicas, y la relación hembra: macho no fue diferente de 1:1 ($\chi^2=1.105$; g.l. = 1; P = 0.293). Esta proporción de sexos es similar a lo reportado por otras especies de psílidos (Hodkinson 2009). No hubo diferencias en la longitud de adultos entre plantas (F = 0.49; g.l. = 1; P = 0.484) ni en la interacción planta × sexo (F = 2.29; g.l. = 1; P = 0.131). No obstante, las hembras (1.6 ± 0.1 mm) fueron más grandes que los machos (1.5 ± 0.1 mm) (F = 102.95; g.l. = 1; P < 0.001). El mayor tamaño de las hembras es similar a lo reportado en *C. terebinthifolii* (Christ et al. 2013) y en otros psílidos (Hodkinson 2009).

Preferencia de oviposición en cuatro genotipos de *S. terebinthifolia*. Las hembras de *C. latiforceps* ovipositaron en todos los genotipos presentes en Florida. La oviposición fue mayor en los genotipos presentes en Florida que en el genotipo K (Fig. 3). El hecho que las hembras tuvieron preferencia de oviposición sugiere que todos los genotipos presentes en Florida pueden ser colonizados, dando ciertas ventajas de adaptación de *C. latiforceps* a estos genotipos.

Otro estudio de agalladores muestra que las hembras no discriminan entre los genotipos resistentes como *Dasineura tetensi* Rübs (Diptera: Cecidomyiidae) en *Ribes nigrum* L. (Saxifragales: Grossulariaceae) (Hellqvist 2001).

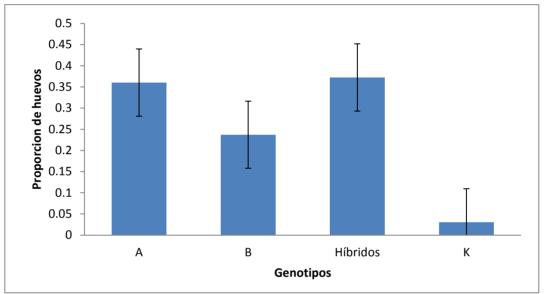


Figura 4. Proporción de huevos depositados \pm error estándar por hembras de *C. latiforceps* en cinco genotipos de *S. terebinthifolia* bajo condiciones de opción múltiple (G = 403.3; g.l. = 3; P < 0.001).

Desarrollo de *C. latiforceps* en genotipos *S. terebinthifolia* presentes en Florida. Usando las curvas de sobrevivencia Kaplan-Meier, se clasificó la respuesta de la planta al ataque de las ninfas como: 1) plantas hipersensitivas (mortalidad de 100% de las ninfas de primer estadio, sin formar agallas y con necrosis) (Stackman 1915); 2) plantas resistentes (con formación de agallas pero muy poca emergencia de adultos); y 3) plantas susceptibles (alta emergencia de adultos) (Fig. 5). La respuesta varió de acuerdo con el genotipo de la planta: 56% de plantas A fueron resistentes, el 56% de plantas B fueron hipersensitivas, mientras que un 89% de plantas K fueron susceptibles (Cuadro 1). Es importante mencionar que solo se utilizaron plantas K susceptibles determinadas previamente.

Las plantas hipersensitivas presentaron necrosis inducida en el punto de alimentación de la ninfa, matando a todas las ninfas a los 2 a 3 días siguientes a la eclosión del huevo. Comparado con plantas resistentes, las plantas susceptibles causaron una mortalidad de

individuos más estable a lo largo del ciclo de vida de *C. latiforceps* (Figura 5). Las ninfas en plantas susceptibles de los genotipos K y B mostraron una mayor sobrevivencia que las de los genotipos híbrido y A.

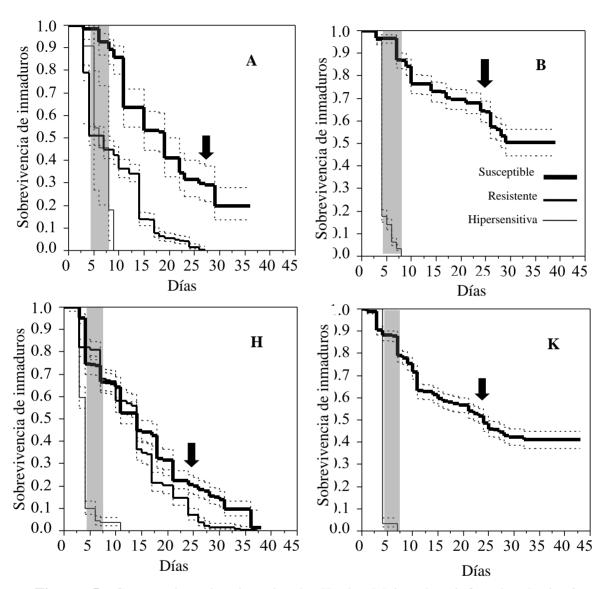


Figura 5. Curvas de sobrevivencia de Kaplan-Meier de ninfas de *C. latiforceps* desarrollándose en diferentes genotipos de *S. terebinthifolia*. Las letras mayúsculas en la esquina superior derecha indican los genotipos A, B, H (hibrido) y K. Las categorías hipersensitiva, resistente y susceptible se muestran con intervalos de 95% de confianza entre las líneas punteadas. Las flechas muestran el primer día de emergencia de adultos y las bandas grises muestran el periodo de eclosión de huevos.

La sobrevivencia de las ninfas fue afectada por el genotipo según el modelo de riesgo proporcional de Cox ($\chi^2 = 208.4$; g.l. = 3; P < 0.001). El riesgo de mortalidad de ninfas se

incrementó 1.6 veces en plantas genotipo B respecto a K. La relación de mortalidad de A respecto a B, e híbridos respecto a B mostraron un riesgo de mortalidad de 1.19 y 1.22 veces mayor, respectivamente (Cuadro 2). La relación de A respecto a los híbridos no mostró diferencias significativas (Cuadro 2). Estos resultados sugieren que el riesgo de mortalidad de las ninfas se incrementó en los genotipos A e híbridos.

Cuadro 1. Porcentaje de plantas hipersensitivas, resistentes y susceptibles en cuatro genotipos de *S. terebinthifolia*.

Genotipo	Hipersensitivas (%)	Resistente (%)	Susceptible (%)
A	11	56	33
Híbrido	33	28	39
В	56	0	44
K (control)	11	0	89

Cuadro 2. Riesgo de mortalidad de un inmaduro de *C. latiforceps* mientras se desarrolla en un genotipo de *S. terebinthifolia*. Estimación según el modelo de riesgos proporcionales de Cox.

Genotipo	g.l. $^{\Omega}$	Parámetro estimado	Error estándar	χ^2	P	Relación de Riesgo [€]	Valor Mínimo	Valor Máximo
A vs. B	1	0.1759	0.0508	11.9	< 0.001	1.19	1.08	1.32
H vs. B	1	0.1953	0.0443	19.4	< 0.001	1.22	1.12	1.33
H vs. A	1	0.0194	0.0489	0.2	0.691	1.02	0.93	1.22
A vs. K	1	0.6151	0.0533	133.2	< 0.001	1.85	1.67	2.05
B vs. K	1	0.4392	0.0487	81.4	< 0.001	1.55	1.41	1.71
H vs. K	1	0.6345	0.0477	181.5	< 0.001	1.89	1.72	2.07

^ΩGrados de libertad.

El genotipo de la planta también influyó en el tiempo de desarrollo de ninfa a adulto de C. latiforceps y en el tamaño del adulto (Kruskal-Wallis test; $\chi^2 = 33.2$; df = 3; P < 0.001). Los inmaduros se desarrollaron más rápido en genotipos K y B (28.3 días) en comparación con los genotipos A e híbrido (30.4 días) (Fig. 8a).

Los adultos emergidos de los genotipos K fueron significativamente más grandes que los emergidos de los genotipos A, B e híbrido (hembras: Kruskal-Wallis test; $\chi^2 = 28.7$; df = 3; P < 0.001; machos: Kruskal-Wallis test; $\chi^2 = 8.8$; df = 2; P = 0.013) (Fig. 8b). El retraso en la emergencia del adulto y su tamaño reducido se pueden atribuir a la resistencia que presenta un determinado genotipo de la planta hospedera (Smith 2005).

[€]La relación de riesgo mide el incremento de mortalidad de un individuo cuando se desarrolla en el primer genotipo comparado con el segundo.

Debido a la proximidad genética entre los genotipos B y K (Williams et al. 2005), las plantas de genotipo B favorecerían el establecimiento de *C. latiforceps* en Florida. Por otro lado, la diferencia genética de A e híbrido con el genotipo K dificultaría el establecimiento de *C. latiforceps* en estos dos genotipos.

No hubo sobrevivencia en plantas hipersensitivas de ningún genotipo, no obstante, la capacidad de formar agallas en plantas hipersensitivas puede ocurrir naturalmente como se reportó en el insecto agallador *Orseolia oryzae* Wood-Mason (Diptera: Cecidomyiidae) el cual empezó a formar agallas en este tipo de plantas de la especie de *Oryza sativa* Linnaeus (Poales: Poaceae) debido al incremento de su cultivo en grandes extensiones (Smith 2005).

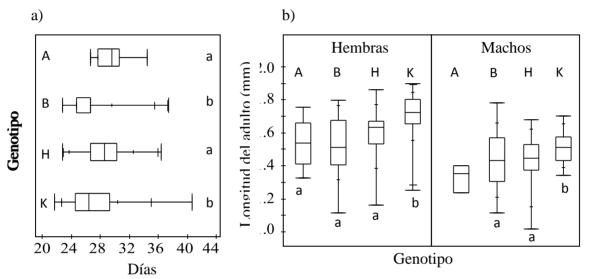


Figura 6. Tiempo de desarrollo de ninfa a adulto (a) y longitud del adulto (b) de C. latiforceps en diferentes genotipos de S. terebinthifolia estimados con la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la comparación múltiple de Dunn (Zar 2010). Las letras mayúsculas indican el genotipo y diferentes letras minúsculas indican diferencias significativas entre genotipos(P < 0.05). Se usaron 7, 26, 19 y 47 réplicas para hembras y 3, 32, 18 y 53 para machos en cuanto a la longitud del adulto en los genotipos A, B, híbridos y K respectivamente.

Se ha reportado artrópodos que pueden adaptarse a plantas resistentes luego de varias generaciones. Por ejemplo, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coloeoptera: Bruchidae) desarrolló virulencia luego de 53 generaciones a un biotipo de *Vigna unguiculata* Linnaeus (Fabales: Fabaceae) (Shade *et al.* 1996). Un biotipo de *Aceria tulipae* Keifer (Acari: Eriophyoidea) se adaptó a la variedad de trigo TAM107 resistente a ácaros en sólo 8 generaciones en condiciones controladas de laboratorio (Harvey *et al.* 1995). La variedad de arroz IR36, inicialmente resistente al biotipo 2 de *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae) hoy en día es susceptible a este biotipo después de 10 años de ser cultivada en alrededor de 10 mil millones de hectáreas. La población de *C. latiforceps* también podría adaptarse a plantas resistentes e hipersensitivas a través del tiempo, debido la alta presión de selección que ejercen este tipo de plantas sobre *C. latiforceps*.

En Florida, el genotipo B de *S. terebinthifolia* predomina en la costa este, mientras que el genotipo A está asociado a la costa oeste, y los híbridos se encuentran dispersos por todo el estado (Williams *et* al. 2005). El establecimiento de *C. latiforceps* podría ocurrir primero en la costa este y luego con el tiempo la resistencia de los genotipos A e híbridos podría ser sobrepasada por desarrollo de virulencia. También es importante examinar otros agentes de control biológicos y su desempeño en los genotipos A, B, e híbridos (Manrique *et al.* 2008), y asi seleccionar aquellos agentes de control que tengan un mayor desempeño en los genotipos A e híbridos.

4. CONCLUSIONES

- La longevidad y fecundidad de *Calophya latiforceps* son mayores comparadas con la de otros psílidos, dándole buenas características de adaptación y colonización de *Schinus terebinthifolia*.
- *C. latiforceps* dejó huevos y completó su desarrollo en todos los genotipos presentes en Florida.
- La mayor mortalidad de inmaduros ocurre dos a tres días luego de la eclosión del huevo, cuando se inicia la agalla.
- La calidad de la hoja (tamaño) tiene una relación positiva con la sobrevivencia de
 C. latiforceps en plantas susceptibles y resistentes, mientras que el tiempo de
 desarrollo de inmaduros no la tiene.
- Los immaduros de *C. latiforceps* se desarrollaron más rápido en los genotipos K y B. Los adultos de la primera generación de *C. latiforceps* obtenidos en los genotipos de Florida (A, B e híbrido) fueron más pequeños que en el genotipo de Brasil (K).
- La sobrevivencia de *C. latiforceps* fue mayor en el genotipo B que en los genotipos A e híbrido. Por lo tanto, la colonización y establecimiento del psilido podría ser favorecido en la costa este de Florida donde el genotipo B predomina.
- Tomando en cuenta solamente condiciones ideales de laboratorio, *C. latiforceps* tiene un alto potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolia* en Florida.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar la adaptación y virulencia de biotipos de *Calophya* spp. colectados en diferentes regiones en plantas que mostraron hipersensitividad y baja sobrevivencia.
- Evaluar la adaptación de la población de *C. latiforceps* durante varias generaciones al desarrollarse en los genotipos de Florida.
- Determinar el impacto de C. latiforceps en el crecimiento de S. terebinthifolia.
- Determinar los enemigos naturales (parasitoides y depredadores) de especies del género *Calophya* presentes en Florida.

6. LITERATURA CITADA

Alvarez, R; Cibrian, D. 1999. Biology of the peppertree psyllid *Calophya rubra* (Blanchard) (Homoptera: Psyllidae). Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 5(1): 51 - 57.

Barkley, F.A. 1944. Schinus L. Brittonia 5: 160–198.

Barkley, F.A. 1957. A study of *Schinus* L. Lilloa Revista de Botanica. Tomo 28. Universidad Nacional del Tucuman, Argentina.

Burckhardt, D; Basset, Y. 2000. The jumping plant-lice (Hemiptera, Psylloidea) associated with *Schinus* (Anacardiaceae): systematics, biogeography and host plant relationships. Journal of Natural History 34(1): 57 - 155.

Burckhardt, D; Cuda, J.P; Manrique, V; Diaz, R; Overholt, W.A; Williams, D.A; Christ, L.R; Vitorino M.D. 2011. *Calophya latiforceps*, a new species of jumping plant lice (Hemiptera: Calophyidae) associated with Schinus terebinthifolius (Anacardiaceae) in Brazil. Florida Entomologist 94(3): 489 - 499.

Christ, L.R; Cuda, J.P; Overholt, W.A; Vitorino, M.D; Mukherjee, A. 2013. Biology, Host Preferences, and Potential Distribution of *Calophya terebinthifolii* (Hemiptera:Calophyidae), a Candidate for Biological Control of Brazilian Peppertree, *Schinus terebinthifolia*, in Florida. Florida Entomologist 96(1): 137 - 147.

Claridge, M.F; Hollander, J.D. 1983. The biotype concept and its application to insect pests of agriculture. Crop protection 2(1): 85 - 95.

Cox, D.R. 1972. Regression Models and Life Tables (with Discussion). Journal of the Royal Statistical Society Series 34(2): 187 - 220.

Cuda, J.P; Medal, D.H; Habeck, J.H; Pedrosa-Macedo; Vitorino, M. 1999. Classical biological control of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius*) in Florida. University of Florida, Cooperative Extension Service ENY-820. Disponible en: http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/IN/IN11400.pdf.

Cuda, J.P; Ferriter, A.P; Manrique, V; Medal, J.C. eds. 2006. Interagency Brazilian Peppertree (*Schinus terebinthifolius*) management plan for Florida: Recommendations from the Brazilian Peppertree Task Force. Florida Exotic Pest Plant Council. 2 ed. 80p.

Cuda, J.P; Christ, L.R; Manrique, V; Overholt, W.A; Wheeler, G.S; Williams, D.A. 2011. Role of molecular genetics in identifying 'fine tuned' natural enemies of the invasive Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius*: a review. BioControl 57(1): 227 - 233.

Flaherty, L; Quiring, D. 2008. Plant module size and dose of gall induction stimulus influence gall induction and galler performance. Oikos 117(11): 1601 -1608.

Harvey, T. L; Martin, T. J; Seifers, D. L; Sloderbeck, P. E. 1995. Adaptations of wheat curl mite (Acaria: Eriophytidae) to resistant wheat in Kansas. Journal of Agricultural Entomology 12(2): 119 - 125.

Hellqvist, S. 2001. Biotypes of *Dasineura tetensi*, differing in ability to gall and develop on black currant genotypes. Entomologia Experimentalis et Applicata 98(1): 85 - 94.

Hodkinson, I.D. 1974. Biology of Psylloidea (Homoptera) overview. Bulletin of Entomological Research 64(2): 325 - 338.

Hodkinson, I.D. 2009. Life cycle variation and adaptation in jumping plant lice (Insecta: Hemiptera: Psylloidea): a global synthesis. Journal of Natural History 43(1-2): 65-179.

Kaplan, E.L; meier, P. 1958. Nonparametric estimation from incomplete observations. Journal of the american statistical association 53(282): 457 - 481.

Kruskal, W.H; Wallis, W.A. 1952. Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. Journal of the American Statistical Association 47(260): 583 - 621.

Larsson, S; Ekbom, B. 1995. Oviposition mistakes in herbivorous insects: confusion or a step towards a new host plant?. Oikos 72(1): 155 - 160.

Mack, R.N; Simberloff, D; Lonsdale, W.M; Evans, H; Clout, M; Bazzaz, F.A. 2000. Biotic Invations: Causes, Epidemiology, Global Consequences, and Control. Ecological Applications 10(3): 689 - 710.

Manrique, V; Cuda, J.P; Overholt, W.A.; Williams, D.A; Wheeler, G.S. 2008. Effect of host-plant genotypes on the performance of three candidate biological control agents of Schinus terebinthifolius in Florida. Biological Control 47(2): 167 - 171.

McKay, F; Oleiro, M; Vitorino, M.D; Wheeler, G. 2012. The leafmining *Leurocephala schinusae* (Lepidoptera: Gracillariidae): not suitable for the biological control of *Schinus terebinthifolius* (Sapindales: Anacardiaceae) in continental USA. Biocontrol Science and Technology 22(4): 477 - 489.

Oleiro, M; Mc Kay, F; Wheeler, G.S. 2011. Biology and Host Range of *Tecmessa elegans* (Lepidoptera: Notodontidae), a Leaf-Feeding Moth Evaluated as a Potential Biological Control Agent for *Schinus terebinthifolius* (Sapindales: Anacardiaceae) in the United States. Environmental Entomology 40(3): 605 - 613.

Pimentel D. 2005. Environmental consequences and economic costs of alien species. *In* Inderjit (Ed.), Invasive Plants: Ecological and Agricultural Aspects. Birkhäuser Verlag, Switzerland, Springer. p. 269 - 276.

Puterka, G. J.; Burton, R.L. 1990. Aphid genetics in relation to host plant resistance. *In* Peters, D. C; Webster J. A; Chlouber C. S. (Eds.), Aphid-Plant Interactions: Populations to Molecules. Stillwater, Oklahoma, USA. p.59 - 69.

Raman, A. 2011. Morphogenesis of insect-induced plant galls: facts and questions. Flora 206(6): 517 - 533.

Rendon, J; Chawner, M; Dyer, K; Wheeler, G.S. 2012. Life history and host range of the leaf blotcher *Eucosmophora schinusivora*: a candidate for biological control of *Schinus terebinthifolius* in the USA. Biocontrol Science and Technology 22(6): 711 - 722.

SAS. 2012. Users Guide. Statistical Analysis Institute Inc., Cary NC.

Shade, R. E; Kitch, L. W; Mentzer, P; Murdock, L. L. 1996. Selection of a cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae) biotype virulent to cowpea weevil resistant landrace TVu 2027. Journal of Economic Entomology 89(5): 1325 - 1331.

Shapiro-Ilian, D.I; Fuxa, J.R; Lacey, L.A; Onstad, D.W; Kaya H.K. 2005. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. Journal of Invertebrate Pathology 88(1): 1 - 7.

Smith, C.M. 2005. Plant resistance to arthropods: Molecular and conventional approaches. 1 ed. Dordrecht, Holanda, Springer. p.65 - 99, 345 - 379.

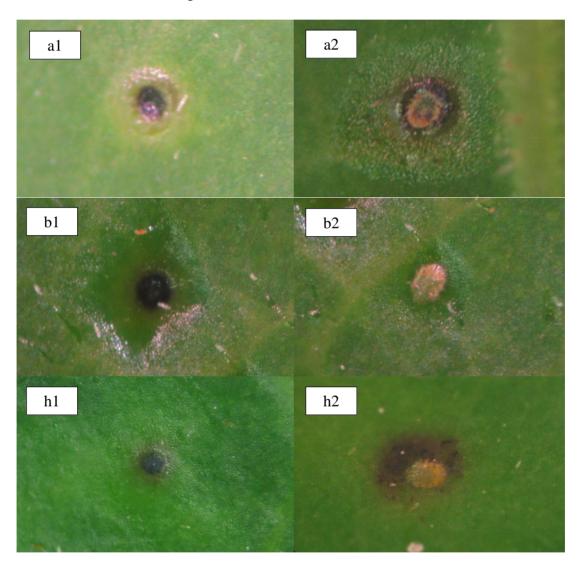
Stakman, E.C. 1915. Relation between *Puccinia graminis* and plants highly resistant to its attack. Journal of Agricultural Research 4(3): 193 - 199.

Van Driesche, R.G; Carruthers, R.I; Center, T; Hoddle, M.S; Hough-Goldstein, J; Morin, L; Smith, L; Wagner, D.L; Blossey, B; Brancatini, V; Casagrande, R; Causton, C.E; Coetzee, J.A; Cuda, J.P; Ding, J; Fowler, S.V; Frank, J.H; Fuester, R; Grodowitz, M; Heard, T.A; Hill, M.P; Hoffmann, J.H; Huber, J; Julien, M; Kairo, M.T.K; Kenis, M; Mason, P; Medal, J; Messing, R; Miller, R; Moore, A; Neuenschwander, P; Newman, R; Norambuena, H; Palmer, W.A; Pemberton, R; Perez Panduro, A; Pratt, P.D; Rayamajhi, M; Salom, S; Sands, D; Schooler, S; Schwarzländer, M; Sheppard, A; Shaw, R; Tipping, P.W; van Klinken, R.D. 2010. Classical biological control for the protection of natural ecosystems. Biological Control 54(1): S2 - S33.

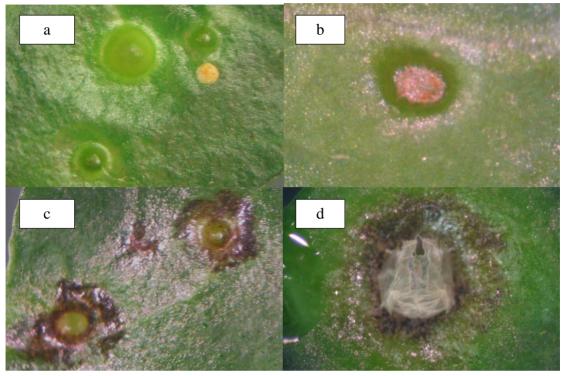
Williams, D.A; Overholt, W.A; Cuda, J.P; Hughes, C.R. 2005. Chloroplast and microsatellite DNA diversities reveal the introduction history of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolia*) in Florida. Molecular Ecology 14(12): 3646 - 3647.

7. ANEXOS

Anexo 1: Fotografías de agallas y ninfas de *C. latiforceps* en plantas hipersensitivas en: (a1) y (a2) genotipo A; (b1) y (b2) genotipo B; (h1) y (h2) genotipo híbrido, presentes en Florida. Nótese el color negro de la necrosis en las células donde la ninfa se alimentó.



Anexo 2: Fotografías de agallas y ninfas de *C. latiforceps* en plantas de resistentes genotipo A. (a) agallas sin necrosis, (b) ninfa muerta dentro de la agalla, (c) agallas abandonada con necrosis al contorno y (d) exuvia de un adulto emergido de agalla con necrosis al contorno.



Anexo 3: Fotografías de agallas y ninfas de *C. latiforceps* en plantas del genotipo B. (a) agalla abandonada sin necrosis, (b) ninfa con desarrollo normal a pesar de tejido necrótico al contorno, (c) agalla abandonada con necrosis al contorno y (d) exuvia de un adulto emergido de agalla con necrosis al contorno.



Anexo 4: Fotografías de agallas y ninfas de *C. latiforceps* en plantas resistentes del genotipo híbrido donde (a) agalla sin necrosis, (b) ninfa con desarrollo normal a pesar de tejido necrótico al contorno, (c) agalla abandonada con necrosis al contorno y (d) exuvia de un adulto emergido de agalla con necrosis.



Anexo 5: Resistencias sin tejido necrótico encontradas en los diferentes genotipos de *S. terebinthifolia* (a) genotipo A, (b) genotipo B, y (c) genotipo híbrido.

