

**Respuesta de la hipersensibilidad de la maleza
invasora Brazilian peppertree (*Schinus
terebinthifolia* Raddi) a *Calophya* spp.**

Sara Elizabeth Salgado Astudillo

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

Respuesta de la hipersensibilidad de la maleza invasora Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) a *Calophya* spp.

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

Presentado por

Sara Elizabeth Salgado Astudillo

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Respuesta de hipersensibilidad de la maleza invasora Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolia* Raddi) a *Calophya* spp.

Sara Elizabeth Salgado Astudillo

Resumen: Brazilian peppertree, tiene una propagación rápida que desplaza la vegetación nativa, ha infestado unas 300,000 ha en el centro y sur de Florida. Existen tres haplotipos A, B y su híbrido, todos tienen plantas susceptibles o hipersensibles. *Calophya terebinthifolii*, *C. lutea* y *C. latiforceps* son psílidos candidatos potenciales a controladores biológicos clásicos. Los objetivos fueron determinar el nivel de hipersensibilidad y susceptibilidad de los haplotipos a las tres especies de psílidos, identificar la preferencia de oviposición sobre los haplotipos, la preferencia de oviposición sobre plantas susceptibles o hipersensibles y determinar cuando la planta hipersensible muestra signos necróticos debido al ataque de los psílidos. Los experimentos fueron en condiciones cuarentenarias del Hayslip Biological Control Research and Containment Laboratory de la Universidad de Florida. Se trabajó con plantas de los tres haplotipos, con plantas hipersensibles, susceptibles y tres especies de psílidos. Cada experimento contó con cinco réplicas por especie de insecto. En Florida hay más plantas susceptibles a la formación de agallas causadas por las ninfas de los psílidos; esto indica que podrán reducir la densidad poblacional de la maleza. Los psílidos no tienen preferencia de oviposición entre los haplotipos ni a las plantas susceptibles o hipersensibles. El día 12 después de la oviposición, las plantas hipersensibles tuvieron tejidos necróticos, lo que ayudará a reducir el tiempo de los experimentos en laboratorio porque antes se esperaban 30 días para clasificarla como hipersensible o susceptible.

Palabras clave: Agallas, control biológico clásico, haplotipos, psílidos, susceptibilidad.

Abstract: Brazilian peppertree a rapid spread that displaces native vegetation, has infested about 300,000 ha in central and southern Florida. There are three haplotypes A, B and a hybrid, these haplotypes are susceptible or hypersensitive plants. *Calophya terebinthifolii*, *C. lutea* and *C. latiforceps* are psyllids, potential candidates for classical biological control. The objectives were to determine the level of hypersensitivity and susceptibility of the haplotypes to the psyllids, to identify the oviposition preference on the haplotypes, oviposition preference on susceptible or hypersensitive plants and to determine when the hypersensitive plant shows necrotic signs due to the attack by psyllids. The experiments were conducted under quarantine conditions in Hayslip Biological Control Research and Containment Laboratory of the University of Florida. We worked with plants of three haplotypes, with hypersensitive, susceptible plants and three species of psyllids. Each experiment had five replicates per insect species. Florida has more plants susceptible to formation of galls caused by nymphs; this indicates that psyllids can reduce the population density of the weed. Psyllids have no oviposition preference between haplotypes, susceptible or hypersensitive plants. Twelve day after oviposition, hypersensitive plants show necrotic tissues, this helps to reduce the time of the experiments in the laboratory because they waited 30 days to classify it as hypersensitive or susceptible.

Key words: Classic biological control, galls, haplotypes, psyllids, susceptibility

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido	iv
Índice de Cuadros y Figuras	v
1. INTRODUCCIÓN	1
2. METODOLOGÍA	5
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
4. CONCLUSIONES.....	14
5. RECOMENDACIONES.....	15
6. LITERATURA CITADA.....	16

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros	Página
1. Experimento 1. Cantidad de huevos, ninfas y adultos a los días 7, 30 y 45 respectivamente de las tres especies del psílido del género <i>Calophya</i> en los tres haplotipos de la planta Brazilian peppertree (<i>Schinus terebinthifolius</i>). Experimento 2. Cantidad de huevos de las tres especies del psílido del género <i>Calophya</i> en los tres haplotipos, al séptimo día después de la liberación de adultos.	11
2. Cantidad de huevos de las tres especies del psílido del género <i>Calophya</i> en plantas hipersensibles y susceptibles a la formación de agallas, al séptimo día de la liberación de adultos.....	12
Figuras	Página
1. Adultos del género <i>Calophya</i> : (A) <i>Calophya lutea</i> , (B) <i>Calophya latiforceps</i> y (C) <i>Calophya terebinthifolii</i>	3
2. Ciclo de vida de <i>Calophya lutea</i> (A) huevo, (B) ninfa y (C) adulto.	5
3. Ciclo de vida de <i>Calophya latiforceps</i> (A) huevo, (B) ninfa y (C) adulto.....	6
4. Ciclo de vida de <i>Calophya terebinthifolii</i> (A) huevo, (B) ninfa y (C) adulto.....	6
5. Materiales utilizados para la crianza de los psílicos y los experimentos. (A) jaula de malla para insectos (61 × 61 × 91 cm) la foto superior es el contenedor abierto que contenía los adultos de las especies de <i>Calophya</i> , (B) jaulas en el invernadero de la cuarentena.	7
6. Plantas de los haplotipos A, B y H, usadas en experimento de preferencia sin selección de oviposición.	8
7. Clasificación visual de la respuesta de <i>Schinus terebinthifolia</i> : (A) huevos blancos, (B) huevos negros, (C) primer estadio ninfal, (D) establecimiento de las ninfas, (E) signos de células necróticas y (F) respuesta hipersensible.	9
8. Estimaciones visuales de plantas de la maleza <i>Schinus terebinthifolius</i> con respuesta hipersensible o susceptible de los haplotipos A, B y H al ataque del género <i>Calophya</i>	10
9. Estimaciones visuales de las categorías del desarrollo de huevos y ninfas del género <i>Calophya</i> . (A) Días en que las plantas muestran respuesta hipersensible o susceptible. (B) <i>C. latiforceps</i> , <i>C. terebinthifolii</i> y <i>C. lutea</i> en <i>Schinus terebinthifolia</i>	13

1. INTRODUCCIÓN

Se consideran malezas invasoras a las especies que se introducen de un ecosistema a otro y su establecimiento puede causar daños económicos, ambientales o a la salud humana. Las especies invasivas pueden crear un desbalance ecológico que facilita su reproducción y diseminación (Cock 1996).

La planta *Schinus terebinthifolia* Raddi (Sapindales: Anacardiaceae), llamada Brazilian peppertree en el estado de Florida, Estados Unidos, es una maleza originaria de Argentina, Paraguay y Brazil (Barkley 1944). Fue introducida en el estado de Florida a finales del siglo XIX como una planta ornamental (Morton 1978; Ferriter 1997). Brazilian peppertree es denominada invasora debido a su rápida propagación que ha desplazado a la vegetación nativa de Florida, formando un denso monocultivo. Entre 1960 y 1970 fue reconocida como un producto nocivo gracias a estudios fitoquímicos que encontraron taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas esteroides y esteroides en la planta (Morton 1978; Bennett et al. 1990). Desde 1969 es de gran importancia en el Parque Nacional Everglades y es un problema para la restauración del parque (Cuda et al. 2006). En la actualidad, aproximadamente 300,000 ha en el centro y sur de Florida están infestadas por esta maleza (Habeck et al. 1994; Cuda et al. 2006).

Las poblaciones de Brazilian peppertree en Florida son el resultado de dos introducciones de lugares del rango nativo, esto resultó en el establecimiento de dos haplotipos de cpDNA (A y B) y sus híbridos (Williams et al. 2005;2007). Los haplotipos están determinados por el tipo de clorofila (A o B) que predomina en la planta. Existen plantas hipersensibles que tienen un mecanismo de defensa que causa que las células vegetales se vuelvan necróticas alrededor del punto de alimentación de las ninfas (Fernandes 1990; Williams et al. 2005), lo que impide su desarrollo y la ninfa no llega a adulto. Brazilian peppertree es alelopática, lo que significa que la planta libera exudados que afectan negativamente a las especies coexistentes, excepto los herbívoros del rango nativo (Hierro y Callaway 2003).

Hay varias maneras de controlar Brazilian peppertree, incluso notificando a los habitantes para que no promuevan su proliferación. En el control mecánico se usa equipo pesado como niveladoras, cargadoras frontales, rastrillos de raíces y otros equipos especializados, sin embargo no son apropiados en áreas naturales (Ferriter 1997). El control químico con glifosato (Roundup®, Monsanto) y triclopyr (Garlon® 4, Dow AgroSciences), ayudan al control. En el sur del estado de Florida se encuentra ampliamente distribuida, ya que los químicos no controlan solamente esta maleza, sino que afecta a la vida de los demás organismos. Una forma de aplicación del herbicida es cortando el árbol lo más cerca al suelo y colocar el herbicida en el tronco en el área del cambium vascular. Las aplicaciones

de triclopyr en la corteza basal del árbol o aplicaciones foliares con los herbicidas causan su marchitamiento (Gioeli y Langeland 1997). En Estados Unidos, aproximadamente 120 mil millones de dólares son utilizados para controlar las especies invasoras (Pimentel 2005).

Existen zonas de difícil acceso en el que no es posible aplicar controles químicos ni mecánicos, además estos controles pueden causar impactos ambientales negativos. Se debe proteger la integridad de los ecosistemas naturales de la degradación biológica causada por Brazilian peppertree buscando otros controles como el control biológico clásico (Cuda et al. 2006).

El control biológico clásico es la introducción de enemigos naturales que se encuentran en el lugar de origen de la maleza. Si el enemigo natural liberado se establece, se reducen las densidades poblacionales de la maleza y se establece un equilibrio entre el enemigo natural y la maleza. La introducción y liberación debe ser aprobada por agencias estatales y federales (Cuda et al. 2006). Además, se pueden realizar otras prácticas de manejo, como cambio en el uso de la tierra, pastoreo, manipulación de nutrientes o agua, que suelen ser integradas con el control biológico clásico para obtener un manejo más sustentable de las plantas invasivas (Van Driesche et al. 2010).

A principios de 1980, se inició en Florida un programa de control biológico clásico con la búsqueda de enemigos naturales de Brazilian peppertree en Brasil, Argentina, Uruguay y Paraguay (Habeck et al. 1994; Cuda et al. 2006; Burckhardt et al. 2011). Se encontraron las especies de psíldos *Calophya lutea* Burckhardt (Hemiptera: Psylloidea: Calophyidae), *Calophya latiforceps* Burckhardt y *Calophya terebinthifolii* Burckhardt & Basset.

Los insectos psíldos en su gran mayoría son muy específicos de sus hospederos y han sido usados para el control biológico de malezas debido a su especificidad. Se ha usado *Calophya schini* como controlador biológico de la maleza invasora *Schinus molle* en California, *Boreioglycaspis melaleucae*, controlador biológico de *Melaleuca quinquenervia* en la Florida (Harris y Shorthouse 1996; Hodkinson 1974; Downer et al. 1988; Rayamajhi et al. 2007). Los psíldos se alimentan del floema de las plantas, y en los estadios ninfales causan mayor daño. Su reproducción es sexual, y el ciclo de vida *Calophya* es completado en aproximadamente 44 días (Christ et al. 2013), sus estadios son huevo, ninfa (cinco estadios ninfales) y adulto. Los huevos son depositados en los márgenes y nervadura principal de las hojas (Hodkinson 1974).

Durante el primer estadio ninfal, los *Calophya* inducen la formación de agallas que son sumidero metabólico que extraen los nutrientes de la planta (Harris y Shorthouse 1996; Raman 2011) y reducen el crecimiento (Prade et al. 2016). Las agallas son estructuras naturales modificadas formadas en el establecimiento de las ninfas de psíldos, que se presentan por causa de un organismo extranjero (insectos) (Harris y Shorthouse 1996; Raman 2011). Las agallas de *Calophya* reducen el crecimiento y rendimiento de la planta. En laboratorio se reporta una reducción en la fotosíntesis (59%), el contenido de clorofila (10%), el área foliar (30%) y la biomasa foliar (13%) en comparación con plantas no infestadas por los psíldos (Prade et al. 2016).

La especie *Calophya lutea* Burckhardt (Hemiptera: Psylloidea: Calophyidae), fue encontrada en Ubu: 20.786°S, 40.579°W, ciudad de Ubu del Estado de Espírito Santo, la especie *Calophya latiforceps* Burckhardt fue encontrado en Salvador: 12.908°S, 38.336°W, ciudad de Salvador, en el estado de Bahia (Burckhardt et al. 2011), y la especie *Calophya terebinthifolii* Burckhardt & Basset, fue encontrada en Brasil en Camboriu: 26.921°S, 48.640°W ciudad de Balneario Camboriu, estado de Santa Catarina en Brasil (Vitorino et al. 2011). Estas tres especies de *Calophya* son candidatos como controladores biológicos de Brazilian peppertree, y los estudios se llevan a cabo en Hayslip Biological Control Research and Containment Laboratory (Figura 1).

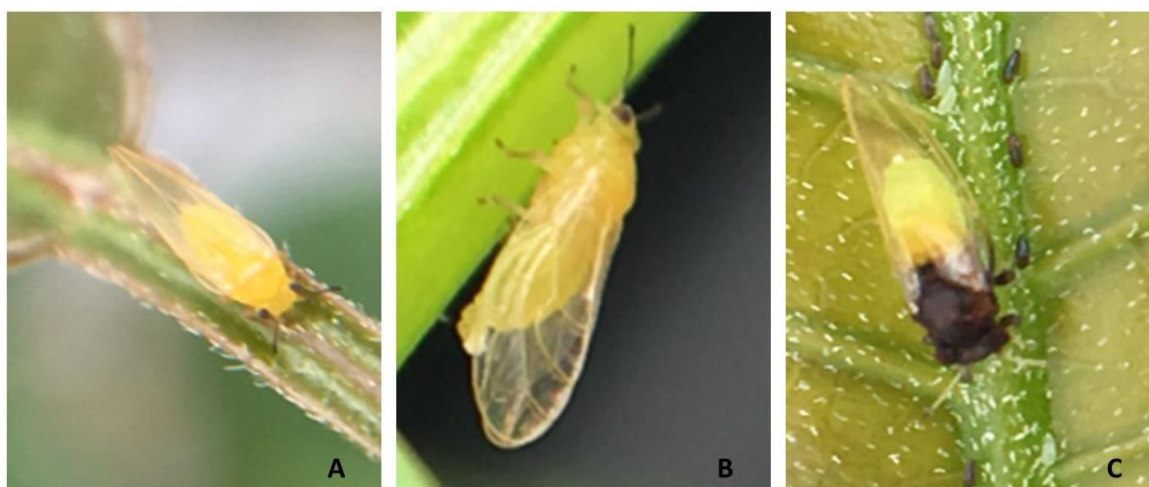


Figura 1. Adultos del género *Calophya*: (A) *Calophya lutea*, (B) *Calophya latiforceps* y (C) *Calophya terebinthifolii*.

El estudio fue importante ya que Brazilian peppertree ha causado un desbalance ecológico por la presencia de compuestos alelopáticos que inhiben el desarrollo, supervivencia y reproducción de otras plantas, consecuente a esto, se ha favorecido el desarrollo de Brazilian peppertree. Se encuentra presente en Alabama, California, Florida, Georgia, Hawai y Texas (EDDMAPS 2017). En 2011, el South Florida Water Management District gastó aproximadamente \$ 1.8 millones de dólares en controlar Brazilian peppertree (Rodgers et al. 2012). Si es exitoso el insecto como controlador biológico, los costos se reducirían ya que ofrecería un control permanente después de su liberación y establecimiento.

Objetivos:

- Determinar el nivel de susceptibilidad e hipersensibilidad en plantas de los haplotipos A, B y su híbrido (H) presente en Florida a *Calophya lutea*, *Calophya latiforceps* y *Calophya terebinthifolii*.
- Identificar las preferencias de oviposición en los tres haplotipos se encuentra en la Florida a *Calophya lutea*, *Calophya latiforceps* y *Calophya terebinthifolii*.

- Identificar las preferencias de oviposición de los adultos a las plantas hipersensibles y susceptibles a *Calophya lutea*, *Calophya latiforceps* y *Calophya terebinthifolii*.
- Determinar el momento en que la planta hipersensible comienza a responder el ataque de las ninfas de *Calophya lutea*, *Calophya latiforceps* y *Calophya terebinthifolii*.

2. METODOLOGÍA

Ubicación. La investigación se realizó en el laboratorio de malezas en Hayslip Biological Control Research and Containment Laboratory, perteneciente al Indian River Research and Education Center, University of Florida, Fort Pierce, Florida, Estados Unidos. Se trabajó con la maleza invasora *Schinus terebinthifolia* Raddi y los psílidos *Calophya lutea* (Figura 2), *Calophya latiforceps* (Figura 3) y *Calophya terebinthifolii* (Figura 4) candidatos a controladores biológicos clásico.

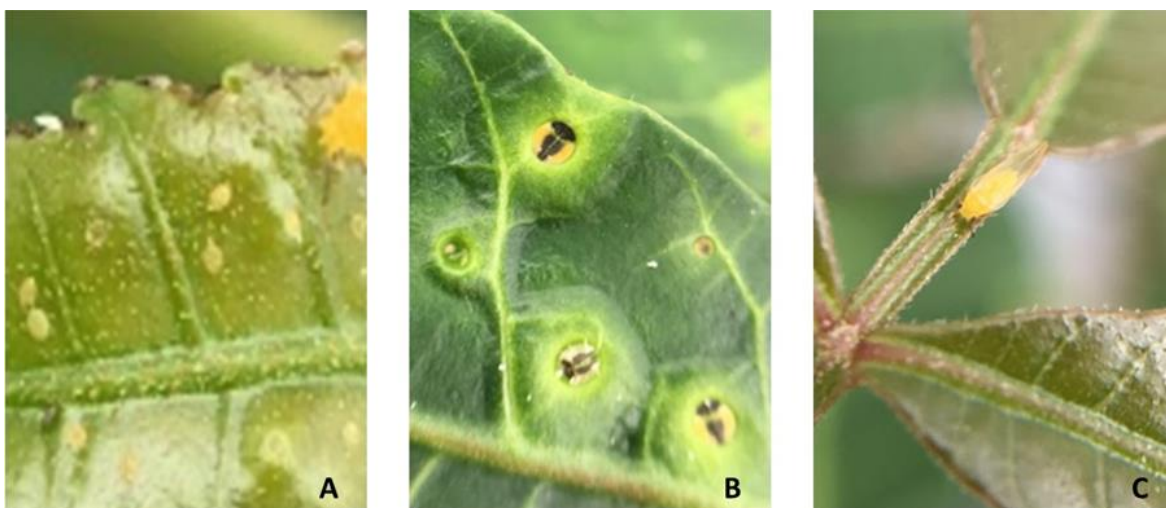


Figura 2. Ciclo de vida de *Calophya lutea* (A) huevo, (B) ninfa y (C) adulto.

Cría de *S. terebinthifolia*. Se recogieron semillas de los haplotipos A, B y su híbrido (H) en varios lugares de Florida. Bajo condiciones de invernadero, las semillas se sembraron en un suelo para jardinería Fafard 3B mix (50% Peat moss, perlita, nutrientes iniciadores, piedra dolomita, corteza de pino procesada, vermiculita, agentes absorbentes) con 14 g del fertilizante de lenta liberación Osmocote Plus[®] (15 N- 9 P-12 K). Las plantas resultantes se fertilizaron mensualmente con el fertilizante líquido Miracle Gro[®]2 (24 N-8 P-16 K) y se regaron dos o tres veces por semana, dependiendo del clima local. Para el control de las plagas (afidos y ácaros) se aplicó una mezcla de agua con jabón sobre las plantas un día antes de ser utilizadas para los experimentos.

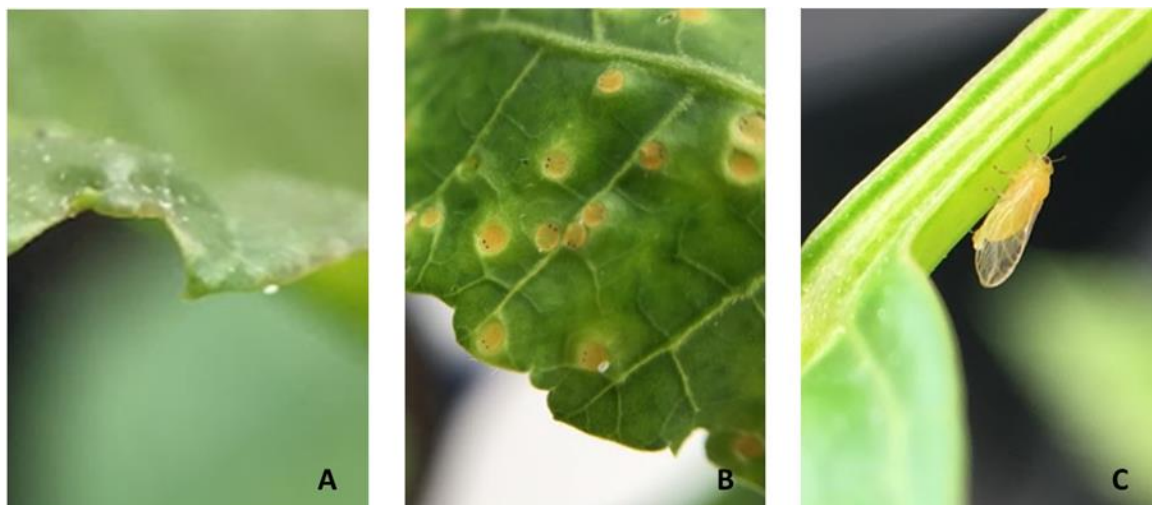


Figura 3. Ciclo de vida de *Calophya latiforceps* (A) huevo, (B) ninfa y (C) adulto



Figura 4. Ciclo de vida de *Calophya terebinthifolii* (A) huevo, (B) ninfa y (C) adulto.

Cría de *C. lutea*, *C. latiforceps* y *C. terebinthifolii*. La crianza de los tres psílicos fue en plantas susceptibles a la formación de agallas, se colocaron dentro de jaulas de malla para insectos ($61 \times 61 \times 91$ cm) (Figura 5A) en invernaderos dentro de la cuarentena (Figura 5B). La temperatura dentro de los invernaderos era entre 22 y 28°C y la humedad relativa de 30 a 60%.

Sobre las plantas que estaban dentro de las jaulas se pulverizó agua dos o tres veces por semana, dependiendo del clima en el invernadero que era determinado por el clima local, para mantener la humedad relativa alta. Esto fue para evitar que las ninfas murieran por deshidratación. Los adultos que emergieron de estas colonias se utilizaron para los experimentos y para el mantenimiento de las colonias sucesivas.



Figura 5. Materiales utilizados para la crianza de los psílidos y los experimentos. (A) jaula de malla para insectos (61 × 61 × 91 cm) la foto superior es el contenedor abierto que contenía los adultos de las especies de *Calophya*, (B) jaulas en el invernadero de la cuarentena.

Preferencia de oviposición de *C. lutea*, *C. latiforceps* y *C. terebinthifolii* en los haplotipos. Se colocó una planta de los haplotipos A, B y H en el centro de una jaula de malla para insectos (61 × 61 × 91 cm) (Figura 6) en invernaderos de la cuarentena (Figura 5B). En medio de las tres plantas se colocaron 20 adultos recién emergidos, los adultos estaban en un contenedor abierto (Figura 5A). Después de siete días, los adultos fueron removidos con un aspirador y tres hojas fueron etiquetadas aleatoriamente, en esas hojas se contaron los huevos para determinar el haplotipo preferido por los psílidos. Hubo cinco repeticiones por cada especie de insecto.

Preferencia de oviposición de *C. lutea*, *C. latiforceps* y *C. terebinthifolii* en plantas susceptibles e hipersensibles. Se colocaron en una jaula de malla para insectos (61 × 61 × 91 cm) una planta susceptible y una planta hipersensible (Figura 5A). En el centro de la jaula se colocó un contenedor abierto que tenía 20 adultos recién emergidos para que los psílidos seleccionaran a su planta preferida. Después de 7 días, los adultos fueron removidos con un aspirador y tres hojas fueron etiquetadas al azar, se contó el número de huevos presente en cada planta. Hubo cinco repeticiones por cada especie de insecto.



Figura 6. Plantas de los haplotipos A, B y H, usadas en experimento de preferencia sin selección de oviposición.

Respuesta de *S. terebinthifolia* al ataque de ninfas. Diez adultos recién emergidos (~ 1 día de edad) de cada especie de *Calophya* se liberaron en cada una de las plantas susceptibles o hipersensibles. Cada tipo de planta contó con 15 repeticiones (15 plantas hipersensibles y 15 plantas susceptibles) por especie de insecto. Después de 1 día de la liberación de los adultos, estos fueron removidos con un aspirador y tres hojas con presencia de huevos fueron etiquetadas al azar. Las plantas fueron evaluadas diariamente a las 15:00 hora durante 14 días consecutivos, hasta que todos los huevos en las hojas etiquetadas habían eclosionado. Durante las evaluaciones diarias de la planta, los huevos y ninfas se clasificaron visualmente en seis categorías: 1) huevos blancos (Figura 7A), 2) huevos negros (Figura 7B), 3) ninfa de primer estadio (Figura 7C), 4) establecimiento de ninfas (Figura 7D), 5) signos de células necróticas (Figura 7E) y 6) respuesta hipersensible (Figura 7F).

Determinación de las plantas susceptibilidad e hipersensibilidad. Los adultos recién emergidos (~ 1 día de edad) de *C. latiforceps*, *C. terebinthifolii* y *C. lutea* fueron recolectados de las colonias y liberados en plantas cuya hipersensibilidad o susceptibles a la formación de agallas era desconocida. Por cada haplotipo hubo cinco plantas y cada planta era una repetición por especie de insecto. Veinte adultos por planta fueron liberados en el centro de una jaula de malla para insectos ($61 \times 61 \times 91$ cm) en invernaderos de la cuarentena (Figura 5B). Después de 7 días, los adultos fueron removidos con un aspirador, se etiquetaron tres hojas al azar y se contaron los huevos en cada hoja etiquetada. Treinta

días después de la oviposición, se evaluó la respuesta de la planta y se clasificó visualmente como hipersensible o susceptible. Cuarenta y cinco días después de la oviposición se contaron los adultos que emergieron en cada planta para comparar la supervivencia en cada haplotipo con cada especie de insecto (A, B y H).

Se consideró una planta hipersensible la que desarrolló tejidos necróticos alrededor del punto de alimentación de las ninfas, esto no permite su establecimiento ni a la formación de agallas, como respuesta la ninfa moría y el psílido no podía completar el ciclo de vida. Las susceptibles eran las plantas que permitían la formación de agallas y el establecimiento de las ninfas, esto permitía que los adultos emergieran y cumplieran su ciclo de vida.

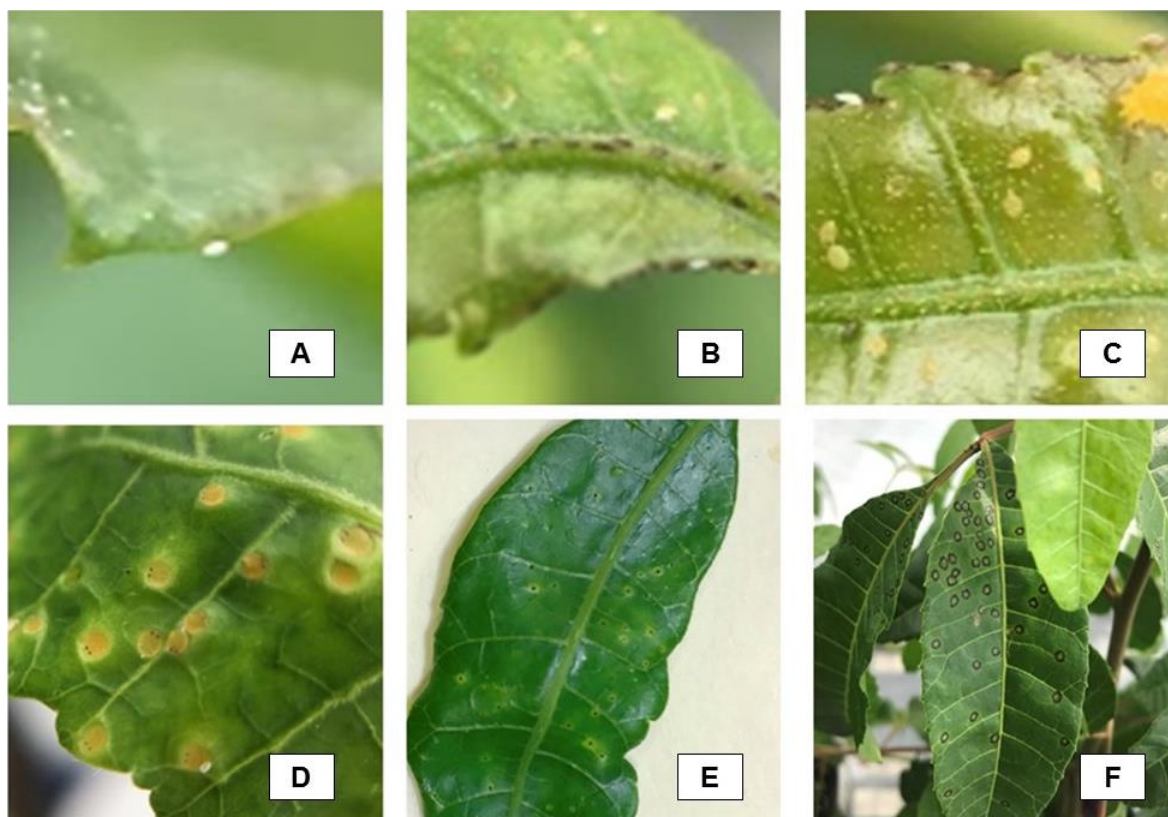


Figura 7. Clasificación visual de la respuesta de *Schinus terebinthifolia*: (A) huevos blancos, (B) huevos negros, (C) primer estadio ninfal, (D) establecimiento de las ninfas, (E) signos de células necróticas y (F) respuesta hipersensible.

Diseño experimental. Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), para el análisis de datos se utilizó el programa estadístico “Statistical Analysis System” SAS® software. Se usó un factorial 3×3 en dos experimentos y 3×2 en dos experimentos, los factores fueron los estadios del insecto, las especies de insecto y respuesta de las plantas a las ninfas. Se hizo el análisis de varianza para el ajuste de los datos y separación de medias Least-Squares Means con una probabilidad del 5% ($\alpha=0.05$) en todos los análisis estadísticos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nivel de susceptibilidad e hipersensibilidad de los haplotipos y su híbrido a *C. lutea*, *C. latiforceps* y *C. terebinthifolii*. Hubo más plantas susceptibles que hipersensibles a la formación de agallas por el ataque de las ninfas y el subsecuente desarrollo de los adultos (Figura 8). Tener más plantas susceptibles favorece el desarrollo de los psílidos para aumentar su población. Esta respuesta puede garantizar el éxito del control biológico clásico ya que la mayoría de las plantas son susceptibles, esto permite la formación de agallas y los psílidos pueden completar el ciclo de vida para ofrecer un control permanente. Así, los psílidos pueden establecer un nivel poblacional cada vez más bajo de Brazilian peppertree, a través del tiempo.

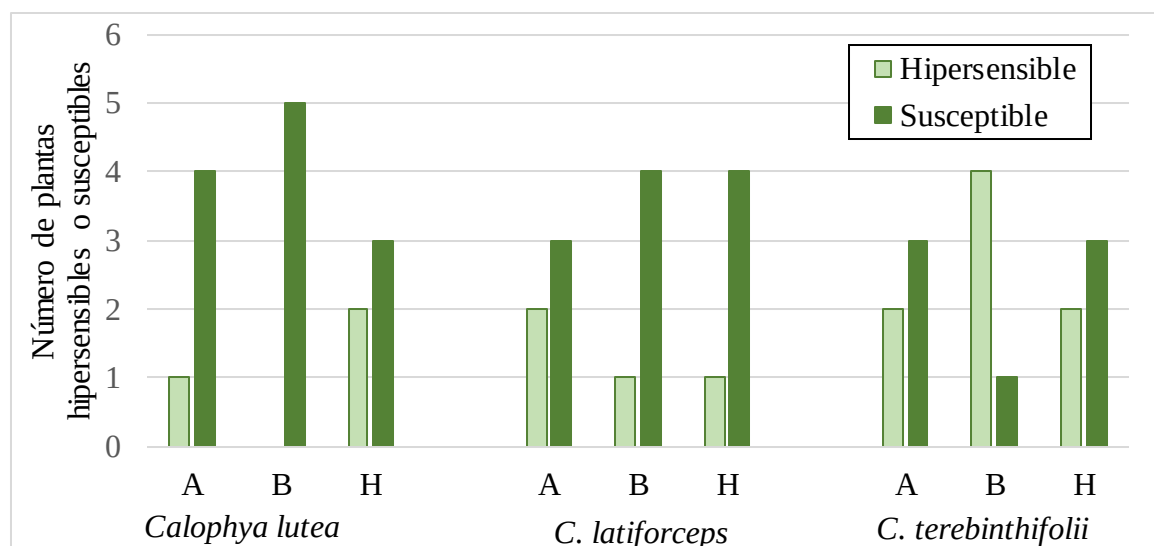


Figura 8. Estimaciones visuales de plantas de la maleza *Schinus terebinthifolius* con respuesta hipersensible o susceptible de los haplotipos A, B y H al ataque del género *Calophya*.

Preferencia de oviposición de *C. latiforceps*, *C. terebinthifolii* y *C. lutea* en los haplotipos. En ninguno de los dos experimentos se encontraron diferencias estadísticas en la interacción especie de *Calophya* y los haplotipos. Esto indica que el efecto de los factores es independiente. Por lo tanto, los factores se discuten individualmente. El factor especie de *Calophya* presentó diferencias estadísticas (probabilidad <0.05). *C. terebinthifolii* tuvo mayor capacidad de oviposición que *C. lutea* y *C. latiforceps*, cuyos huevos se transformaron en ninfas y adultos (Cuadro 1). *C. terebinthifolii* puede ser un mejor

controlador biológico porque al colocar más huevos hay más cantidad de ninfas que dañan a la planta y reducen su desarrollo. Además, los adultos, al emerger de las ninfas, seguirán colocando más huevos y aumentará el daño a Brazilian peppertree (Christ et al. 2013). Al haber más adultos hay más oviposición y más ninfas cuyo ataque causa la formación de agallas que reducen el crecimiento de las plantas (Prade et al. 2016).

En los haplotipos no hay diferencias significativas entre la cantidad de huevos, ninfas ni adultos. Es decir, las especies de *Calophya* ovipositan en cualquiera de los haplotipo de Brazilian peppertree, no tienen preferencia sobre ninguno. Los resultados obtenidos descartan la hipótesis planteada por Lindsey Christ (Christ 2013), ella expresó que los psíidos tendrían preferencia para ovipositar en haplotipos de Brazilian peppertree más cercano a los de Brasil, lugar de origen de los psíidos y los *Calophya*.

Cuadro 1 Experimento 1. Cantidad de huevos, ninfas y adultos a los días 7, 30 y 45 respectivamente de las tres especies del psílido del género *Calophya* en los tres haplotipos de la planta Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius*). Experimento 2. Cantidad de huevos de las tres especies del psílido del género *Calophya* en los tres haplotipos, al séptimo día después de la liberación de adultos.

Factores	Experimento 1			Experimento 2
	Huevos	Ninfas	Adultos	Huevos
Especie de <i>Calophya</i>				
<i>C. lutea</i>	140.6 ab [¥]	40.5 b	24.7 b	5.8 b
<i>C. latiforceps</i>	108.8 b	18.0 b	12.7 b	6.8 b
<i>C. terebinthifolii</i>	226.3 a	119.7 ab	92.8 a	54.7 a
Probabilidad	0.0469	0.0292	0.0158	0.0002
Haplotipos				
A	163.3 a	72.2 a	52.7 a	21.9 a
B	157.5 a	31.2 a	20.3 a	25.7 a
H	154.9 a	74.7 a	57.1 a	18.7 a
Probabilidad	0.9837	0.4475	0.3748	0.8763

[¥]Los promedios en la columna seguidos con letras diferentes son estadísticamente diferentes.

Preferencia de oviposición de *C. latiforceps*, *C. terebinthifolii* y *C. lutea* en plantas susceptibles e hipersensibles. No se encontró diferencia estadística en la interacción especie de *C. lutea*, *C. latiforceps* ni *C. terebinthifolii* con las plantas hipersensibles o susceptibles a la formación de agallas, lo que indica que los factores son independientes y se discuten de manera individual.

El factor especie de *Calophya* tiene diferencias estadísticas (probabilidad <0.05). La especie de *C. terebinthifolii* y *C. lutea* tuvo mayor capacidad de oviposición que *C. latiforceps*, lo que significa que estas dos especies de insectos tienen un mayor potencial como

controladores biológicos, al tener mayor cantidad de huevos tendrán más ninfas y consecuentemente más adultos (Cuadro 2).

El factor haplotipo no tiene diferencias estadísticas (probabilidad >0.05), tuvo las mismas cantidades de huevos en las plantas hipersensibles o susceptibles a la formación de agallas. La respuesta del mecanismo de defensa no influye en la preferencia de los psíidos. La oviposición es independiente de la especie de *Calophya* (Cuadro 2).

Cuadro 2. Cantidad de huevos de las tres especies del psílido del género *Calophya* en plantas hipersensibles y susceptibles a la formación de agallas, al séptimo día de la liberación de adultos.

Factores	Huevos
Especie de <i>Calophya</i>	
<i>C. lutea</i>	125.6 a [‡]
<i>C. latiforceps</i>	39.9 b
<i>C. terebinthifolii</i>	137.0 a
Probabilidad	0.0014
Respuesta de las plantas	
Susceptible	112.4 a
Hipersensible	89.3 a
Probabilidad	0.2749

[‡]Los promedios en la columna seguidos con letras diferentes son estadísticamente diferentes.

Respuesta de *S. terebinthifolia* al ataque de ninfas. Se conocía que las plantas presentaban una respuesta hipersensible a la formación de agallas, no se encontró diferencia significativa en la interacción especie de insecto y respuesta a la formación de agallas (plantas hipersensibles y susceptibles) (probabilidad de 0.4987).

El factor respuesta de la planta a la formación de agallas tiene una probabilidad de 0.4258. Las plantas hipersensibles empiezan a mostrar signos necróticos a partir del día 10, y en el día 12 todas las plantas hipersensibles tuvieron signos necróticos (Figura 9 A). El tiempo en que las plantas muestran tejidos necróticos ayuda a reducir el tiempo que toman los experimentos en laboratorio ya que anteriormente se debía esperar 30 días para clasificar las plantas como hipersensibles o susceptibles.

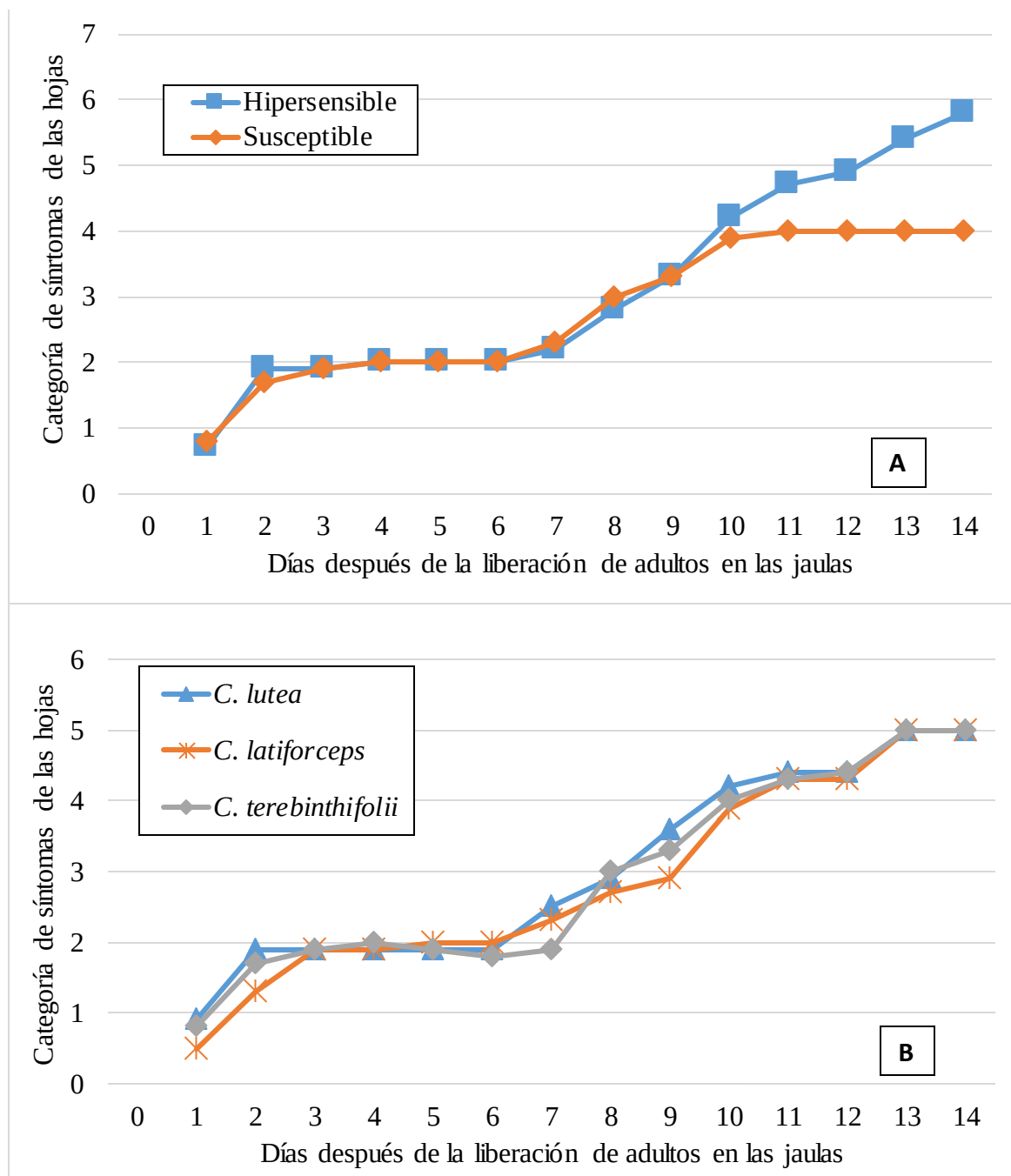


Figura 9. Estimaciones visuales de las categorías del desarrollo de huevos y ninfas del género *Calophya*. (A) Días en que las plantas muestran respuesta hipersensible o susceptible. (B) *C. latiforceps*, *C. terebinthifolii* y *C. lutea* en *Schinus terebinthifolia*.

4. CONCLUSIONES

- La cantidad de plantas susceptibles es mayor que las hipersensibles. La especie de *Calophya terbinthifolii* tuvo mayor capacidad de oviposición que *Calophya lutea* y *Calophya latiforceps*.
- Las especies de *Calophya* no tienen preferencia de oviposición entre los haplotipos A, B ni su híbrido (H).
- Las especies de *Calophya* no tienen preferencias de oviposición entre las plantas hipersensibles o susceptibles a la formación de agallas.
- Las plantas hipersensibles empiezan a presentar signos necróticos a partir del día 10, y en promedio todas las plantas tienen signos necróticos en el día 12 después de la liberación de adultos en las jaulas para insectos.

5. RECOMENDACIONES

- Determinar si los psíidos se comportan igual a diferentes temperaturas.
- Determinar si el psíido es vector de enfermedades.
- Evaluar los genotipos de Brazilian peppertree para identificar la secuencia de nucleótidos que permiten el desarrollo de la hipersensibilidad.

6. LITERATURA CITADA

- Barkley FA. 1944. *Schinus* L. Brittonia 5: 160 - 198.
- Bennett FD, Crestana L, Habeck DH, Berti-Filho E. 1990. Brazilian peppertree - prospects for biological control, pp. 293 - 297. In Delfosse, E. ed. Proceedings of the VII International Symposium on Biological Control of Weeds. March 6 - 11, 1988. Rome, Italy.
- Burckhardt D, Cuda JP, Manrique V, Diaz R, Overholt WA, Williams DA, Christ LR, Vitorino MD. 2011. *Calophya latiforceps*, a New Species of Jumping Plant Lice (Hemiptera: Calophyidae) Associated with *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) in Brazil. Florida Entomol. 94(3): 489 - 499.
- Christ LR. 2010. Biology, population growth, and feeding preferences of *Calophya terebinthifolii* (Hemiptera: Psyllidae), a candidate for biological control of Brazilian Peppertree, *Schinus terebinthifolius* (Sapindales: Anacardiaceae) [M.Sc. thesis]. Univ. Florida, Gainesville, Florida. 102 p.
- Christ L, Cuda JP, Overholt WA, Vitorino MD, Mukherjee A. 2013. Biology, host preferences, and potential distribution of *Calophya terebinthifolii* (Hemiptera: Calophyidae), a candidate for biological control of Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolia*. Florida Entomol. 96(1): 137 - 147.
- Cock MJ. 1996. Control biológico de malezas. Manejo de malezas para países en desarrollo. Estudios FAO: Producción y protección vegetal - 120. [Consultado 2017 enero 25] en: <http://www.fao.org/docrep/t1147s/t1147s0d.htm>
- Cuda JP, Ferriter AP, Manrique V, Medal JC. [eds.] 2006. Florida's Brazilian Peppertree Management plan, 2nd edition: Recommendations from the Brazilian Peppertree Task Force, Florida Exotic Pest Plant Council, April 2006. <http://ipm.ifas.ufl.edu/pdf/BPmanagPlan.pdf>.
- Downer JA, Svihra P, Molinar RH, Fraser JB, Koehler CS. 1988. New psyllid pest of California USA pepper tree. Calif. Agric. 42:30 - 32.

- EDDMapS (Early detection & distribution mapping system). 2017. The University of Georgia - Center for Invasive Species and Ecosystem Health; [consultado 2017 junio 16]. <http://www.eddmaps.org/>
- Fernandes GW. 1990. Hypersensitivity - A neglected plant-resistance mechanism against herbivores. *Environ. Entomol.* 19(5): 1173 - 182 p.
- Ferriter A. 1997. Brazilian Pepper Management Plan for Florida: Recommendations from the Brazilian Pepper Task Force, Florida Exotic Pest Plant Council. The Florida Exotic Pest Plant Council 1ra ed. Gainesville, Florida, USA.
- Gioeli K, Langeland K. 1997. Brazilian pepper-tree control. University of Florida, Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences, SS - AGR -17.
- Habeck DH, Bennett FD, Balciunas JK. 1994. Biological control of terrestrial and wetland weeds. In D. Rosen, F. Bennett, & J. Capinera (Eds.), *Pest management in the subtropics: Biological control - A Florida perspective* 523 - 547 p.
- Harris P, Shorthouse JD. 1996. Effectiveness of gall inducers in weed biological control. *The Canadian Entomologist* 128(6): 1021 - 1055.
- Hierro J, Callaway R. 2003. Allelopathy and exotic plant invasion. *Plant Soil* 256: 29 - 39.
- Hodkinson ID. 1974. Biology of Psylloidea (Homoptera) - review. *Bull Entomol. Res.* 64:325 - 338.
- Langeland KA, Stocker RK. 2001. Control of non-native plants in natural areas of Florida 2nd ed. SP - 242. University of Florida, IFAS, Cooperative Extension Service. Florida: Gainesville.
- Morton JF. 1978. Brazilian pepper - its impact on people, animals and the environment. *Economic Botany* 32: 353 - 359.
- Pimentel D. 2005. Environmental consequences and economic costs of alien species. In Inderjit (Ed.), *Invasive Plants: Ecological and Agricultural Aspects* 269 - 276.
- Prade P, Diaz R, Vitorino MD, Cuda JP, Kumar P, Gruber B, Overholt WA. 2016. Galls induced by *Calophya latiforceps* (Hemiptera: Calophyidae) reduce leaf performance and growth of Brazilian peppertree. *Biocontrol Science and Technology*, 26(1): 23 - 34.
- Raman A. 2011. Morphogenesis of insect-induced plant galls: Facts and questions. *Flora - Morphology Distribution Functional Ecology of Plants*; [consultado 2017 junio 16]. 206, 517 - 533 p. [doi:10.1016/j.flora.2010.08.004](https://doi.org/10.1016/j.flora.2010.08.004)

- Rayamajhi MB, Van TK, PrattPD, 2007. *Melaleuca quinquenervia* dominated forests in Florida: analyses of natural-enemy impacts on stand dynamics. *Plant ecology* 192, 119 – 132.
- Rodgers I, Bodle M, Black D, Laroche F. 2012. Status of nonindigenous species, chapter 7: pp. 7 - 1 to 7 - 35 in 2012 South Florida Environmental Report, vol. I. The south Florida Environment. South Florida water mgt. District, West Palm Beach, FL. http://my.sfwmd.gov/portal/page/portal/pg_grp_sfwmd_sfer/portlet_prevreport/2012_sfer/v1/chapters/v1_ch7.pdf
- Van Driesche RG, Carruthers RI, Center T, Hoddle MS, Hough-Goldstein J, Morin , Smith L, Wagner DL, Blossey B, Brancatini V, Casagrande R, Causton CE, Coetzee JA, Cuda JP, Ding J, Fowler SV, Frank JH, Fuester R, Grodowitz M, Heard TA, Hill MP, Hoffmann JH, Huber J, Julien M, Kairo MTK, Kenis M, Mason P, Medal J, Messing R, Miller R, Moore A, Neuenschwander P Newman R, Norambuena H, Palmer WA, Pemberton R, Perez Panduro A, Pratt PD, Rayamajhi M, Salom S, Sands D, Schooler S, Schwarzländer M, Sheppard A, Shaw R, Tipping PW, Van Klinken RD. 2010. Classical biological control for the protection of natural ecosystems. *Biological Control* 54(1): S2 - S33.
- Vitorino MD, Christ LR, Barbieri G, Cuda JP, Medal JC. 2011. *Calophya terebinthifolii* (Hemiptera: Calophyidae), a candidate for biological control of *Schinus terebinthifolius* (Sapindales: Anacardiaceae): feeding preferences and impact studies. *Florida Entomol.* 94(3): 694 - 695.
- Williams DA, Muchugu E, Overholt WA, Cuda JP. 2007. Colonization patterns of the invasive Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius*, in Florida. *Heredity* 98:284 - 293.
- Williams DA, Overholt WA, Cuda JP, Hughes CR. 2005. Chloroplast and microsatellite DNA diversities reveal the introduction history of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius*) in Florida. *Mol. Ecol.* 14: 3643 - 3656.