



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

# **Fitófagos asociados a *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) en Argentina y la evaluación de su potencial como agentes de control biológico clásico**

**Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de  
Buenos Aires en el área de: CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Fernando Mc Kay

Director: Guillermo Alejandro Logarzo

Consejero de estudios: Nicolás Schweigmann

Lugar de trabajo: Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI)

Fecha de defensa: 9 de abril de 2019

# Fitófagos asociados a *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) en Argentina y la evaluación de su potencial como agentes de control biológico clásico

**Resumen.** *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) es un árbol o arbusto nativo del sur de Sudamérica (Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina), devenido en especie invasora en comunidades naturales y áreas de conservación en Australia, Sudáfrica y Estados Unidos de América (EUA). La creciente expansión de *S. terebinthifolius* en EUA y la poca eficacia en el control de esta especie por parte de métodos químicos y mecánicos han llevado a la creación de un plan de manejo integrado de *S. terebinthifolius* en el cual se incorpora el control biológico clásico. El objetivo principal de esta tesis fue buscar y estudiar los fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en Argentina y evaluar su potencial como agentes de control biológico clásico de esta especie en EUA. En consecuencia, se plantearon los siguientes objetivos específicos: a) identificar los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* a través de exploraciones en la Argentina; b) analizar la completitud de las exploraciones en la Argentina a través de la realización de curvas de acumulación de especies y estimadores de riqueza de especies y c) seleccionar los artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* para estudios adicionales. Se realizaron 25 viajes exploratorios entre 2004 y 2012 a lo largo de la distribución de *S. terebinthifolius* en las provincias fitogeográficas de la Selva Paranaense y Espinal (Corrientes y Misiones). Los sitios fueron visitados dos-cuatro veces al año para registrar variaciones estacionales en la presencia y abundancia de los artrópodos fitófagos. Se analizó la completitud de las exploraciones en busca de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en la Argentina a través del trazado de curvas de acumulación de especies en base a distintos

estimadores de la riqueza de especies sobre una matriz de datos de presencia-ausencia de especies en los distintos viajes realizados. La selección de artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico se realizó en base a la valoración integrada del conjunto de plantas huéspedes conocidas a partir de registros bibliográficos, la frecuencia y abundancia en el campo, la facilidad de establecer una cría del agente en el laboratorio, el nivel de daño y la especificidad en el campo, siendo esta última una variable de gran relevancia. En total se encontraron 41 enemigos naturales asociados a las hojas, tallos y frutos de *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae. La riqueza de especies según los distintos estimadores fue de 95 (Chao2), 67,4 (*bootstrap*) y 46,7 (Jack2), sugiriendo que nuevas especies podrían ser recolectadas en viajes exploratorios adicionales. En base a los criterios de selección mencionados anteriormente, se seleccionaron la polilla minadora *Leurocephala schinusae* y la avispa sierra *Heteroperreyia hubrichi* como potenciales agentes de control biológico para realizar estudios adicionales de su biología y especificidad. El hecho de que *L. schinusae* haya utilizado en las pruebas de laboratorio un amplio conjunto de especies de Anacardiaceae ecológica y económicamente valiosas en América del Norte e Islas del Caribe, descartó su consideración como agente de control de *S. terebinthifolius* en EUA. Si bien *H. hubrichi* utilizó un amplio conjunto de huéspedes en las pruebas de laboratorio, su alta especificidad en los estudios de campo permiten seguir considerando a esta especie como un potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius*.

Palabras claves: planta invasora, Chichita, *Brazilian peppertree*, exploración, pruebas de especificidad, control biológico

# Phytophagous associated with *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) in Argentina and the evaluation of their potential as classical biological control agents

**Abstract.** *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) is a tree or shrub native to southern South America (Brazil, Paraguay, Uruguay and Argentina), which became an invasive species in natural conservation areas in Australia, South Africa and the United States of America (USA). The increasing expansion of *S. terebinthifolius* in the USA and the low efficiency in the control of this species by chemical and mechanical methods have led to the creation of an integrated management plan for *S. terebinthifolius* in which classical biological control is incorporated. The main objective of this thesis was to search and study the phytophagous associated with *S. terebinthifolius* in Argentina and the evaluation of their potential as classical biological control agents of this species in the USA. Specific objectives were: a) identification of the arthropods associated with *S. terebinthifolius* b) assessment of the completeness of sampling of the phytophagous arthropod assemblage on *S. terebinthifolius* and c) selection of arthropods with more potential as biological control agents for *S. terebinthifolius* for further studies. Twenty five exploratory trips were conducted between 2004 and 2012 along *S. terebinthifolius* distribution within the phytogeographical provinces of Espinal and Selva Paranaense (Corrientes and Misiones). Sites were visited 2-4 times per year in order to register phenological variations in the presence and abundance of natural enemies. The completeness of sampling of the phytophagous arthropod assemblage on *S. terebinthifolius* was determined through species accumulation curves

and species richness estimators based on a presence-absence matrix. Arthropods with more potential as biological control agents were selected considering the following criteria: known host plant records, frequency and abundance in the field, ease to establish a laboratory colony, the level of damage on *S. terebinthifolius* and the field host range. As a result, 41 phytophagous arthropods were found associated to the leaves, stems and fruits of *S. terebinthifolius* and other Anacardiaceae. Estimated species richness resulted higher with different estimators 95 (Chao2), 67,4 (*bootstrap*) y 46,7 (Jack2) than the number of species observed (41) suggesting that further sampling will reveal additional species. Based on the selection criteria listed above, the leafminer *Leurocephala schinusae* Davis y Mc Kay (Lepidoptera: Gracillariidae) and the sawfly *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae) were selected as potential biological control agents to conduct further biological and host specificity studies. Considering the many valued plant species in its host range, especially several North American natives, *L. schinusae* was discarded as a biological control for *S. terebinthifolius* in the USA. Although *H. hubrichi* accepted for oviposition a wide range of host plants in the laboratory tests, its high field host range encourage its further consideration as a biological control agent for *S. terebinthifolius* in the USA.

Key words: invasive plant, *Chichita*, Brazilian peppertree, exploration, specificity tests, biological control.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a todo el personal de la FuEDEI y a los colaboradores del proyecto.

## **DEDICATORIA**

Le dedico esta tesis a mi director, Guillermo Logarzo, quien me brindó todo su apoyo.

## **TABLA DE CONTENIDOS**

<b>Portada</b>	<b>1</b>
<b>Resumen</b>	<b>2</b>
<b>Abstract</b>	<b>4</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>6</b>
<b>Dedicatoria</b>	<b>7</b>
<b>Tabla de contenidos</b>	<b>8</b>
<b>Lista de tablas</b>	<b>11</b>
<b>Lista de figuras</b>	<b>12</b>
<b>1 Introducción general</b>	<b>13</b>
1.2 Taxonomía y distribución de <i>Schinus terebinthifolius</i>	<b>13</b>
1.3 Características morfológicas y biológicas que facilitan la invasión de <i>S. terebinthifolius</i>	<b>14</b>
1.4 Definición del problema y los perjuicios ocasionados por <i>Schinus terebinthifolius</i>	<b>16</b>
1.5 Plantas invasoras y control biológico	<b>17</b>
1.6 Antecedentes del control biológico de <i>S. terebinthifolius</i>	<b>20</b>
1.7 Fundamentación del estudio	<b>21</b>
1.8 Organización de la tesis	<b>21</b>
<b>2 Búsqueda y selección de artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico</b>	<b>23</b>
2.1 Introducción	<b>23</b>
2.2 Materiales y métodos	<b>25</b>
2.2.1 Exploración	<b>25</b>
2.2.2 Evaluación de las exploraciones realizadas	<b>27</b>
2.2.3 Criterios de selección de artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico	<b>28</b>



2.2.4 Estudios preliminares de especificidad en laboratorio	29
2.3 Resultados y discusión	32
2.3.1 Exploración	32
2.3.2 Evaluación de las exploraciones realizadas	36
2.3.4 Selección de artrópodos fitófagos asociados con mayor potencial como agentes de control biológico	38
2.4 Discusión general	59
<b>3 Biología y especificidad de <i>Leurocephala schinusae</i> Davis &amp; Mc Kay (Lepidoptera: Gracillariidae)</b>	<b>62</b>
3.1 Introducción	62
3.2 Materiales y métodos	63
3.2.1 Lugar de trabajo y obtención del material	63
3.2.2 Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval	63
3.2.3 Pruebas de especificidad	64
3.2.4 Pruebas de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas	66
3.2.5 Pruebas de oviposición sin opción y desarrollo larval con plantas en maceta	66
3.2.6 Pruebas de oviposición con opción múltiple y desarrollo larval	67
3.2.7 Estacionalidad y especificidad a campo	68
3.2.8 Análisis estadístico	69
3.3 Resultados	70
3.3.2 Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval	68
3.3.3 Pruebas de especificidad	74
3.3.4 Pruebas de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas	74
3.3.5 Pruebas de oviposición y desarrollo larval sin opción con plantas en maceta	75
3.3.6 Pruebas de oviposición y desarrollo larval con opción múltiple	76
3.3.7 Estacionalidad y especificidad a campo	76

3.4 Discusión	78
<b>4 Biología y especificidad de <i>Heteroperreyia hubrichi</i> Malaise (Hymenoptera: Pergidae)</b>	<b>82</b>
4.1 Introducción	82
4.2 Materiales y métodos	83
4.2.1 <i>Lugar de trabajo y obtención del material</i>	83
4.2.2 <i>Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval</i>	83
4.2.3 <i>Pruebas de especificidad</i>	84
4.2.4 <i>Pruebas de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas</i>	86
4.2.5 <i>Pruebas de oviposición sin opción con plantas en maceta</i>	87
4.2.6 <i>Especificidad a campo</i>	87
4.3 Resultados y discusión	88
4.3.1 <i>Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval</i>	88
4.3.2 <i>Pruebas de especificidad</i>	92
4.3.3 <i>Pruebas de oviposición sin opción con tallos cortados</i>	92
4.3.4 <i>Pruebas de oviposición sin opción con plantas en maceta</i>	93
4.3.5 <i>Especificidad a campo</i>	93
4.4 Discusión general	94
<b>5 Conclusiones</b>	<b>101</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>103</b>

## **Lista de tablas**

**Tabla 1.** Artrópodos fitófagos asociados a *Schinus terebinthifolius* y otras Anacardiaceae en Argentina.

**Tabla 2.** Contribuciones al conocimiento de la fauna de insectos fitófagos de *S. terebinthifolius* en Sudamérica.

**Tabla 3.** Grupos de insectos fitófagos de *S. terebinthifolius* en inspecciones realizadas en Sudamérica.

**Tabla 4.** Estudios preliminares de especificidad en laboratorio.

**Tabla 5.** Cápsulas cefálicas de los estadios larvales de *L. schinusae*.

**Tabla 6.** Cantidad de huevos/minas incipientes registrada en la prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas.

**Tabla 7.** Cantidad de minas incipientes y adultos emergidos en la prueba de oviposición y desarrollo larval sin opción en plantas en maceta.

**Tabla 8.** Cantidad de huevos/minas incipientes y adultos emergidos en la prueba de oviposición y desarrollo larval con opción múltiple.

**Tabla 9.** Estacionalidad y especificidad a campo de *L. schinusae*.

**Tabla 10.** Duración de los estados de vida y ancho de cápsulas cefálicas de *H. hubrichi*.

**Tabla 11.** Cantidad de huevos registrada en la pruebas de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas.

**Tabla 12.** Cantidad de huievos registrada en la pruebas de oviposición sin opción con plantas en maceta.

**Tabla 13.** Especificidad a campo de *H. hubrichi*.

## **Lista de figuras**

**Figuras 1.** *Schinus terebinthifolius*. A- Hojas. B- Inflorescencia. C- Frutos.

**Figura 2.** Graduación hipotética de la especificidad: desde especialista a generalista. La especificidad se define por dos ejes: conjunto de huéspedes (*host range*) y aceptabilidad relativa de los huéspedes. Potenciales agentes de control B y C poseen el mismo conjunto de huéspedes pero difieren en la aceptabilidad relativa de los mismos (tomado de van Klinken 2000).

**Figura 3.** Principales sitios de recolección de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae.

**Figura 4.** Curva de acumulación de enemigos naturales asociados a *S. terebinthifolius* basada en recolecciones realizadas en 25 viajes exploratorios en Argentina y estimadores de riqueza de especies: jack2, *bootstrap* y Chao 2.

**Figura 5.** Ácaro eriófido y daño en *S. terebinthifolius*. **A-** Ácaro en microscopía electrónica de barrido ambiental. **B-** daño en hoja de *S. terebinthifolius*.

**Figura 6.** *Apocnemidophorus blandus*. **A-** Adulto alimentándose de *S. terebinthifolius*. **B-**Adulto y oviposición en tallo de *S. terebinthifolius*.

**Figura 7.** *Cecidonius?* sp. (Lepidoptera: Cecidosidae). **A-** Agallas cilíndricas huecas. **B-**Agallas esféricas producto del parasitismo. **C-** Adulto.

**Figura 8.** *Leurocephala schinusae*. **A-**Hojas de *S. terebinthifolius* con minas. **B-** Adulto.

**Figura 9.** *Crasimorpha infusata*. **A-**Agalla en tallo de *S. terebinthifolius*. **B-** Adulto.

**Figura 10 A-C.** Patrones alares de especímenes adultos de *Paectes obtotunda*.

**Figura 11 A-C.** Genitales (*aedeagi*) de tres especímenes macho de *Paectes obtotunda*.

**Figura 12 T. elegans.** **A-** Adulto. **B-** Huevos. **C-** Larvas.

**Figura 13. Heteroperreyia hubrichi.** **A-** Larvas. **B-** Hembra (izquierda) y macho (derecha) adultos.

**Figura 14.** **A-** Recipiente de las pruebas sin opción con tallos cortados. **B-** Mangas para las pruebas sin opción en maceta.

**Figura 15. Estacionalidad y especificidad a campo.** Sitios de muestreo de follaje de *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae.

**Figura 16. Huevos y larvas de L. schinusae.** **A-** Minas incipientes, huevo y detalle de huevo en MEBA. **B-** Mina sobre folíolo de *S. terebinthifolius* y la ubicación de las larvas dentro de la misma.

**Figura 17. Larva madura de L. schinusae.** **A-** Larva madura dentro del capullo con *frothy globules* y detalle de los mismos en MEBA. **B-** Detalle de cabeza en vista ventral de larva madura en MEBA.

**Figura 18.** **A-** Recipiente de las pruebas sin opción con tallos cortados. **B-** Mangas para las pruebas sin opción en maceta.

**Figura 19.** **A-** Huevos de *H. hubrichi*. **B-** Hembra protegiendo la oviposición.

**Figura 20.** **A-** Larvas de *H. hubrichi* con comportamiento gregario. **B-** Daño en plantas de *S. terebinthifolius*.

**Figura 21.** **A-** Larva de *H. hubrichi* en postura de defensa. **B-** Muda y saco bilobulado conteniendo sustancias de defensa.

**Figura 22.** Hembra (izquierda) y macho de *H. hubrichi*.

**Figura 23. Enemigos naturales de H. hubrichi.** **A-** Tachinidae. **B-** *Perilampus* sp. **C-** *Brotocoris tabidus*.

## **1 Introducción general**

*Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), chichita, es un árbol o arbusto nativo del sur de Sudamérica (Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina), devenido en especie invasora en comunidades naturales y áreas de conservación en Australia, Sudáfrica y Estados Unidos de América (EUA). La creciente expansión de *S. terebinthifolius* en EUA y la poca eficacia en el control de esta especie por parte de métodos químicos y mecánicos han llevado a la elaboración de un plan de manejo integrado de esta especie en el cual se incorpora el control biológico clásico. El objetivo principal de esta tesis fue el de buscar y estudiar los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en Argentina y seleccionar aquellos con potencial para ser utilizados como agentes de control biológico clásico de esta especie invasora en EUA.

### **1.2 Taxonomía y distribución de *Schinus terebinthifolius***

La familia Anacardiaceae comprende unos 70-80 géneros con aproximadamente 600 especies descritas distribuidas en zonas tropicales, subtropicales y templadas de América y Eurasia (Muñoz 2000; Pell 2004). Dentro de esta familia se destacan algunas especies de importancia económica cultivadas para el consumo de sus frutos o semillas (*Mangifera indica* L. (Mango), *Pistacia vera* L. (Pistacho) y *Anacardium occidentale* L. (Castaña de Cajú)), explotadas por el valor de su madera y para la obtención de taninos (*Schinopsis balanse* y *S. lorentzii*, quebracho colorado), lacas, barnices y aceites (*Toxicodendron* y *Gluta* spp.). También las hay de importancia sanitaria para la salud humana por ser causantes de severas dermatitis (*Lithrea*, *Metopium* y *Toxicodendron* spp., etc.). En la Argentina existen 33 especies de Anacardiaceae nativas distribuidas en 6 géneros: *Astronium* (3) Jacquin, *Lithrea* (2) Hooker & Arnott, *Loxopterygium* (1) Hooker, *Mauria* (1) Kunth, *Schinopsis* (4) Engler y *Schinus* (22) L. (Muñoz 2000).

El género *Schinus* L., nativo de Sudamérica, incluye unas 30 especies, de las cuales 22 están presentes en la Argentina (Barkley 1957; Muñoz 2000). *Schinus terebinthifolius* es nativa de la Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay (Barkley 1957; Muñoz 2000). Introducida como planta ornamental desde mediados del siglo XIX (Mack 1991) en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, *S. terebinthifolius* se ha naturalizado en más de 20 países tales como: Samoa, Australia, Bermuda, Fiyi, Isla Mauricio, Micronesia, Nueva Caledonia, Isla Reunión, Sudáfrica, Tahiti y EUA (Cuda *et al.* 2012; USDA-NRCS 2018). En base a caracteres foliares y de la inflorescencia, existen cinco variedades de *S. terebinthifolius*, dos de las cuales, *S. terebinthifolius* var. *acutifolius* y *S. terebinthifolius* var. *pohlianus*, habitan en la Argentina (Muñoz 2000). En EUA se reporta la existencia de tres variedades: *S. terebinthifolius* var. *acutifolius* Engl., *S. terebinthifolius* var. *terebinthifolius* Raddi y *S. terebinthifolius* var. *raddianus* Engl. (Cuda *et al.* 2006), siendo esta última la más representada en el estado de Florida (Wheeler comunicación personal). Recientemente, estudios de caracterización genética analizando muestras de ADN de los cloroplastos de *S. terebinthifolius* de Florida (EUA) y de Sudamérica, revelaron la existencia de 10 haplotipos, de los cuales solo dos (y el híbrido entre ambos) están presentes en Florida (Williams *et al.* 2005).

### **1.3 Características morfológicas y biológicas que facilitan la invasión de *S. terebinthifolius***

*Schinus terebinthifolius* es un árbol o arbusto perenne de hojas compuestas imparipinnadas (7-13 foliolos por hoja) (Fig. 1A). El raquis y el peciolo de las hojas, al igual que los brotes apicales, toman en muchas ocasiones un color rojizo. Es una especie polígamodioica, las flores son producidas en panículas de 2 a 11 cm de largo, insertas en las axilas de las hojas cercanas al extremo de las ramas (Fig. 1B). La producción de hojas es más o menos continua a lo largo del año (Ewel *et al.* 1982). La floración tiene lugar desde septiembre hasta abril y la fructificación hasta el mes de junio (Muñoz

1990). Las drupas son esferoides de color rojo brillante (5-6 mm de diámetro) (Fig. 1C), las cuales contienen una única semilla (Muñoz 1990). El crecimiento vegetativo de *S. terebinthifolius* se detiene durante la floración y luego es seguido de un período de crecimiento y extensión de tallos y ramas (Cuda *et al.* 2006). *Schinus terebinthifolius* tiene la capacidad de rebrotar a partir de tallos y coronas dañadas por fuego, corte mecánico o tratamiento por herbicidas. Las raíces, dañadas o no, también pueden dar lugar a nuevas plantas. La prolífica producción por rebrote de nuevas plantas y su alta tasa de crecimiento, contribuyen a la formación de manchones densos de plantas, especialmente en etapas tempranas de la invasión de nuevos hábitats (Woodall 1979).



**Figura 1.** *Schinus terebinthifolius*. A- Hojas. B- Inflorescencia. C- Frutos.

El éxito de *S. terebinthifolius* para establecerse se debe a su rápido crecimiento, gran producción de semillas, renovación de follaje prácticamente continuo, gran capacidad para rebrotar (Ewel 1979) y una amplia tolerancia para desarrollarse en condiciones extremas de humedad (Ewe & Sternberg 2002; 2003), salinidad (Mytinger & Williamson 1987) y ambientes sombríos (Ewel 1979). También posee sustancias alelopáticas alojadas en los frutos y hojas que inhiben el crecimiento y provocan la pérdida del follaje de especies nativas de las áreas invadidas (Morton 1978; Donnelly *et al.* 2008).

#### **1.4 Definición del problema y los perjuicios ocasionados por *Schinus terebinthifolius***

*Schinus terebinthifolius* es un arbusto exótico invasor en Australia, Sudáfrica y EUA (Cuda *et al.* 2006; CABI 2018). En EUA, *S. terebinthifolius* ha invadido comunidades naturales y áreas de conservación en los estados de California, Hawái, Texas y Florida (FLEPPC Plant List Committee 2018; USDA-NRCS 2018). *Schinus terebinthifolius* ocupa un área (280.000 ha) mayor que cualquier otra especie invasora en Florida (Schmitz *et al.*, 1997) y es una de las especies exóticas más importantes que amenazan la biodiversidad del ambiente nativo (Rodgers *et al.* 2014).

*Schinus terebinthifolius* es dispersada por el hombre y numerosos mamíferos y aves que se alimentan de sus frutos, diseminando las semillas a través de sus heces (Morton 1978; Williams 2007). Desde su introducción a principios del siglo XX en el estado de Florida, *S. terebinthifolius* ha invadido prácticamente todos los hábitats nativos (Habeck 1995; Donnelly *et al.* 2008), provocando una disminución de la biodiversidad y de la fuente de alimento de la fauna nativa (Morton 1978; Cuda *et al.* 2006).

Se han emprendido algunos esfuerzos exitosos, pero costosos para controlar pequeños parches de *S. terebinthifolius* en Florida (Cuda *et al.* 2006). La remoción efectiva de una parcela de 24,4 ha en el Parque Nacional Everglades utilizando fuego y maquinaria se realizó a un costo de US\$ 640.000 (Doren *et al.* 1990). Sin embargo, se estima que la restauración de un área de 2000 ha demandaría 20 años a un costo de US\$20 millones (US\$37.000 por ha) (Cuda *et al.* 2006). El Departamento de Protección Ambiental y otras agencias locales del estado de Florida destinaron en 2002/03 un promedio de US\$600/ha para el control de *S. terebinthifolius* mediante el uso de herbicidas (Cuda *et al.* 2006). En 2011, el Ente de administración del agua del sur del estado de Florida invirtió US\$ 1.795.000 en el control químico y mecánico de *S. terebinthifolius* (Rodgers *et al.* 2012).



La exposición a compuestos volátiles o a la savia de *S. terebinthifolius*, al igual que muchas otras Anacardiaceae, produce reacciones alérgicas diversas, problemas respiratorios, dolores de cabeza, irritación ocular y síntomas gripales, pudiendo provocar dermatitis y edemas en personas sensibles (Morton 1978; Cuda *et al.* 2006). Las propiedades alérgicas de *S. terebinthifolius* ocasionan pérdidas millonarias anuales en la industria turística del estado de Florida (Smith & Brown 1994; Cuda *et al.* 2006). La presencia de una resina tóxica en las hojas, frutos y corteza de *S. terebinthifolius* resulta venenosa para aves y mamíferos, pudiendo provocar la muerte de ganado (Morton 1978).

La creciente expansión de *S. terebinthifolius* y la poca eficacia y el elevado costo en el control de esta especie por parte de métodos químicos y mecánicos han llevado a la creación de un plan de manejo integrado de esta especie en el cual se incorpora el control biológico con el fin de evitar que se continúe degradando el ecosistema natural del estado de Florida (Cuda *et al.* 2006).

### **1.5 Plantas invasoras y control biológico**

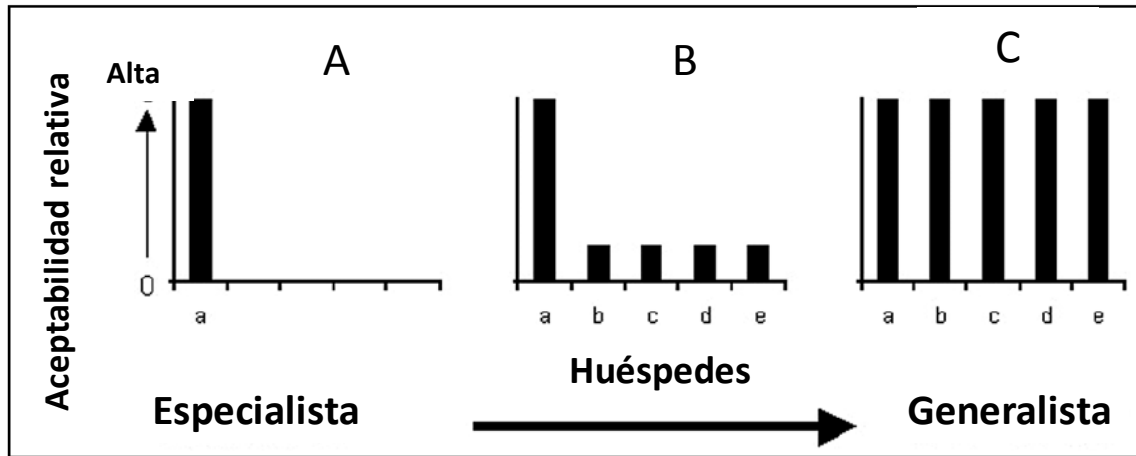
Una de las hipótesis más citadas como uno de los mecanismos que opera en el éxito invasivo de las plantas exóticas, es la “hipótesis de liberación de enemigos” (*enemy release hypothesis*). Esta hipótesis plantea que las especies de plantas, al introducirse en una región exótica, experimentan una disminución de la regulación por sus enemigos naturales lo que resulta en un rápido aumento en su distribución y abundancia (Keane & Crawley 2002). Desde el punto de vista del manejo de las especies exóticas invasoras, esta hipótesis constituye la base conceptual de los programas de CBC.

El control biológico fue definido originalmente como la acción de parásitos, predadores o patógenos (enemigos naturales) para mantener la densidad poblacional de un organismo a un nivel más bajo que el que existiría en su ausencia (DeBach 1964). El control biológico puede suceder en forma natural, o puede ser producto de la intervención humana a través de una

selección y manipulación sobre bases científicas de esos enemigos naturales (control biológico aplicado). En este último caso, el control biológico puede ser enfocado de distintas maneras para diferentes propósitos. Cuando se busca el control inmediato de una plaga (especialmente en cultivos bajo cubierta), no necesariamente en forma permanente, mediante la cría masiva y liberación al ambiente de enemigos naturales, se trata de control biológico aumentativo. Cuando se procura aumentar y conservar las poblaciones de enemigos naturales de una plaga, mediante la manipulación del ecosistema (*e.g.* usando técnicas agrícolas, sembrando o evitando que desaparezcan plantas huéspedes del agente de control, o realizando cultivos que favorezcan su establecimiento), se trata de control biológico por conservación. En cambio, si el objetivo es controlar una plaga exótica invasora en grandes extensiones y en forma permanente, mediante la introducción y el establecimiento de un enemigo natural del lugar de origen de la plaga, el método se denomina control biológico clásico (CBC) (DeLoach *et al.* 1989; Cabrera Walsh *et al.* 2014). Esta última modalidad es la más antigua y difundida para el control de plantas exóticas invasoras. Históricamente, la mayoría de los enemigos naturales utilizados en el CBC de plantas invasoras fueron insectos y unos pocos patógenos (hongos, bacterias, y virus) (Huffaker 1964; DeLoach *et al.* 1989; McEvoy 1996).

En términos de seguridad, la consideración más importante en un programa de CBC consiste en determinar el riesgo que tiene un potencial agente de control de dañar a especies no blanco en el área invadida por la especie invasora. Dicho riesgo se establece a partir de la realización de experimentos en laboratorio y a campo para determinar la especificidad del potencial agente de control (Goolsby *et al.* 2006; Van Driesche *et al.* 2007). La especificidad es un concepto compuesto por dos dimensiones: la amplitud del conjunto de huéspedes que un potencial agente utiliza (*e.g.* alimentación, oviposición, etc.) y la aceptación o el desempeño relativo en de cada huésped (Fig. 2).

## Potenciales agentes de control



**Figura 2.** Graduación hipotética de la especificidad: desde especialista a generalista. La especificidad se define por dos ejes: conjunto de huéspedes (*host range*) y aceptabilidad o desempeño relativo en cada huésped. Potenciales agentes de control B y C poseen el mismo conjunto de huéspedes pero difieren en la aceptabilidad relativa de los mismos (tomado de van Klinken 2000).

Por lo tanto, las pruebas de especificidad tienen como objeto determinar el conjunto de plantas huéspedes de un potencial agente de control y la aceptabilidad o utilización relativa de las mismas (Heard & Van Klinken 1998; Heard 2000). La lista de especies de plantas a incluir en las pruebas de especificidad se elabora principalmente en base al método centrífugo filogenético (Wapshere 1974). El método consiste en evaluar la respuesta de los potenciales agentes de control progresivamente en especies de mayor alejamiento filogenético respecto de la planta exótica a controlar. Primero en especies del mismo género, luego en especies de géneros de la misma tribu, subfam., familia y familias dentro del orden. Esta premisa, basada en una extensa literatura ecológica (Ehrlich & Raven 1964; Futuyma & Moreno 1988; Mitter & Farrell 1991), asume que los enemigos naturales específicos siguen un patrón filogenético en la selección y utilización de sus plantas huéspedes. La lista de especies a incluir en las pruebas de especificidad también contempla la superposición biogeográfica, similitudes ecológicas con la planta invasora (Briese & Walker 2002; Briese 2003) y especies de plantas, que aunque pueden no estar directamente

emparentadas con la planta invasora, poseen compuestos metabólicos secundarios similares (Tallamy 2000; Wheeler 2005; Wheeler & Shaffner 2013). Las pruebas de especificidad en laboratorio, plantean limitaciones de confinamiento al momento de reproducir con precisión las señales y estímulos que afectan la aceptación de un huésped por parte de un agente de control en el ambiente natural (Marohasy 1998; Heard 2000). Dado que existen limitaciones asociadas al tipo de diseño utilizado en las pruebas de especificidad, Es por ello que la decisión de utilizar un organismo como agente de control biológico debe tener en cuenta la información previa (revisiones bibliográficas), inspecciones de campo y pruebas en laboratorio y a campo (Heard & van Klinken 1998; Marohasy 1998; Purcell *et al.* 2004).

#### **1.6 Antecedentes del control biológico de *S. terebinthifolius***

El CBC de *S. terebinthifolius* se inició en EUA en los años cincuenta con la introducción de tres agentes en Hawái: *Crasimorpha infuscata* Hodges (Lepidoptera: Gelechiidae), *Episimus unguiculus* Clarke (= *E. utilis*) (Lepidoptera: Tortricidae) y *Lithraeus atronotatus* (Pic) (Coleoptera: Bruchidae) (Davis & Krauss 1962; Krauss 1963; Hight *et al.* 2002; Winston *et al.* 2014). Solo las dos últimas especies se establecieron, pero sin provocar un daño apreciable en las poblaciones de *S. terebinthifolius* (Yoshioka & Markin 1991; Hight *et al.* 2002). Posteriormente en los años ochenta y noventa, exploraciones en Sudamérica para el control de *S. terebinthifolius* en el estado de Florida revelaron la presencia de más de 200 enemigos naturales (Bennett *et al.* 1990; Bennett & Habeck 1991). Tres insectos, procedentes de Brasil, fueron seleccionados y estudiados en establecimientos cuarentenarios como potenciales agentes de control de *S. terebinthifolius*: *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae), *Pseudophilothrips ichini* Hood (Thysanoptera: Phlaeothripidae) y *E. unguiculus* Clarke (= *E. utilis*) (Medal *et al.* 1999; Hight *et al.* 2002; Martin *et al.* 2004). Al presente, ninguno de estos insectos ha sido liberado. La creciente expansión de *S. terebinthifolius*

y la preocupación por el uso de herbicidas en EUA, motivó la búsqueda de nuevos agentes de control biológico en la Argentina, un área no explorada anteriormente e interpretada como el centro de origen del género *Schinus* (Muñoz 2000).

### **1.7 Fundamentación del estudio**

La Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI) y el Laboratorio de Investigación de Plantas Invasivas, USDA-ARS, Fort Lauderdale, Florida, (EUA) firmaron un acuerdo de investigación con el objetivo de buscar y estudiar los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en la Argentina y seleccionar aquellos con potencial de ser utilizados como agentes de control biológico de esta especie en EUA. La exploración de enemigos naturales en el área de distribución nativa de una planta invasora constituye una etapa fundamental en el desarrollo de un programa de CBC. El estudio de los artrópodos fitófagos asociados a una planta y sus especies emparentadas, constituyen un aporte novedoso al conocimiento de la diversidad biológica, la distribución de especies y de las asociaciones tróficas. Esta información resulta mayormente novedosa, cuando la planta en estudio, *S. terebinthifolius*, es una especie que no reviste mayor importancia económica en el área de distribución nativa.

### **1. 8. Organización de la tesis**

El propósito general de este trabajo fue la búsqueda y el estudio de los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en la Argentina y evaluar su potencial como agentes de control biológico de esta especie en EUA. En este contexto, se planteó como hipótesis que los artrópodos fitófagos específicos evolucionan asociados a sus plantas huéspedes en el área de distribución nativa, poniendo a prueba la predicción de que en la Argentina habrá artrópodos fitófagos específicos que utilizan a *S. terebinthifolius*. En consecuencia, se plantearon los siguientes

objetivos: a) identificar los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* a través de exploraciones en la Argentina; b) analizar la completitud de las exploraciones en la Argentina a través de la realización de curvas de acumulación de especies y estimadores de riqueza de especies y c) seleccionar los artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* para estudios adicionales (Capítulo 2). La selección de artrópodos fitófagos de *S. terebinthifolius* con mayor potencial como agentes de control biológico se realizó en base a la valoración integrada de los siguientes aspectos: el conjunto de plantas huéspedes conocidas a partir de registros bibliográficos, la frecuencia y abundancia en el campo, la facilidad de establecer una cría del agente en el laboratorio, el nivel de daño y la especificidad en el campo, siendo esta última una variable de gran relevancia. En consecuencia, se estudió la biología y especificidad de *Leurocephala schinusae* Davis y Mc Kay (Lepidoptera: Gracillariidae) (Capítulo 3) y *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae) (Capítulo 4). En estos capítulos se evaluó la hipótesis de que el conjunto de plantas que un insecto fitófago específico utiliza (e.g. alimentación, oviposición) está restringido a un grupo de especies filogenéticamente relacionado y la predicción derivada de que, de resultar específico, la utilización de *L. schinusae* y *H. hubrichi* disminuirá progresivamente en plantas de mayor alejamiento filogenético respecto de su planta huésped, *S. terebinthifolius*. En consecuencia, en los capítulos 3 y 4 se realizaron estudios adicionales de la biología y se evaluó la especificidad de *L. schinusae* y *H. hubrichi* con el fin de analizar su potencial como agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA. Finalmente, se presenta un resumen de las discusiones de cada parte del trabajo, junto con algunas conclusiones y consideraciones finales (Capítulo 5).

## **2 Búsqueda y selección de artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico.**

### **2.1 Introducción**

Una vez que se ha elegido una planta exótica invasora como objetivo de un programa de control biológico clásico (CBC), debe decidirse dónde buscar sus controladores biológicos (artrópodos fitófagos y patógenos). El área de búsqueda más prometedora suele ser el centro de origen del género al cual pertenece la planta en estudio debido a que allí se encuentra la mayor diversidad de fitófagos específicos (Wapshere 1974; Müller-Scharer *et al.* 1991; McClay *et al.* 2004). A su vez, la inspección de especies cercanamente emparentadas y coexistentes con la planta objeto de control, brinda información valiosa sobre la especificidad de los potenciales agentes de control biológico (Balciunas *et al.* 1996; Witt 2004).

Después que el área de búsqueda es identificada, se realizan exploraciones de campo para elaborar un inventario, lo más completo posible, de los artrópodos fitófagos asociados a la planta en estudio. La exploración es probablemente la etapa más demandante en cuanto al tiempo y a la logística en un programa de CBC (DeLoach *et al.* 1989; Goolsby *et al.* 2006). Por lo tanto, es importante optimizar el esfuerzo y determinar cuándo las exploraciones pueden considerarse completadas para el objetivo planteado. Las curvas de acumulación de especies en base a alguna medida de esfuerzo de muestreo, pueden ayudar a estimar cuán exhaustivo fue el muestreo en un área determinada (Müller-Schärer *et al.* 1991; Heard & Pettit 2005).

Si bien una planta puede tener una gran cantidad de artrópodos fitófagos asociados en su área nativa (Cordo & DeLoach 1987; Palmer & Pullen 1995; van Klinken & Campbell 2001), no todos pueden ser completamente estudiados, comparados y clasificados para escoger al “mejor” agente de control biológico. La selección de artrópodos fitófagos para realizar estudios adicionales tiene

en cuenta: revisiones bibliográficas para identificar plantas huéspedes conocidas, la secuencia del descubrimiento, la frecuencia de recolección en el campo, el área de distribución, la estacionalidad, la duración del ciclo de vida, la facilidad de establecer una cría del agente en el laboratorio, el nivel de daño, la especificidad a campo, estudios preliminares de especificidad en laboratorio, la experiencia y la intuición del investigador (Goolsby *et al.* 2006; Van Driesche *et al.* 2007).

Si bien, el CBC de *S. terebinthifolius* se inició en los años cincuenta en Hawái y en los años ochenta en Florida, al presente, ningún agente de control ha sido liberado en EUA producto de estas investigaciones. La ausencia de exploraciones previas en nuestro país, y su interpretación como el centro de origen del género *Schinus*, con la presencia de 22 de las 30 especies del género (Muñoz 2000), orientó la búsqueda y el estudio de los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* hacia la Argentina para la búsqueda de potenciales agentes de control biológico de esta especie en EUA.

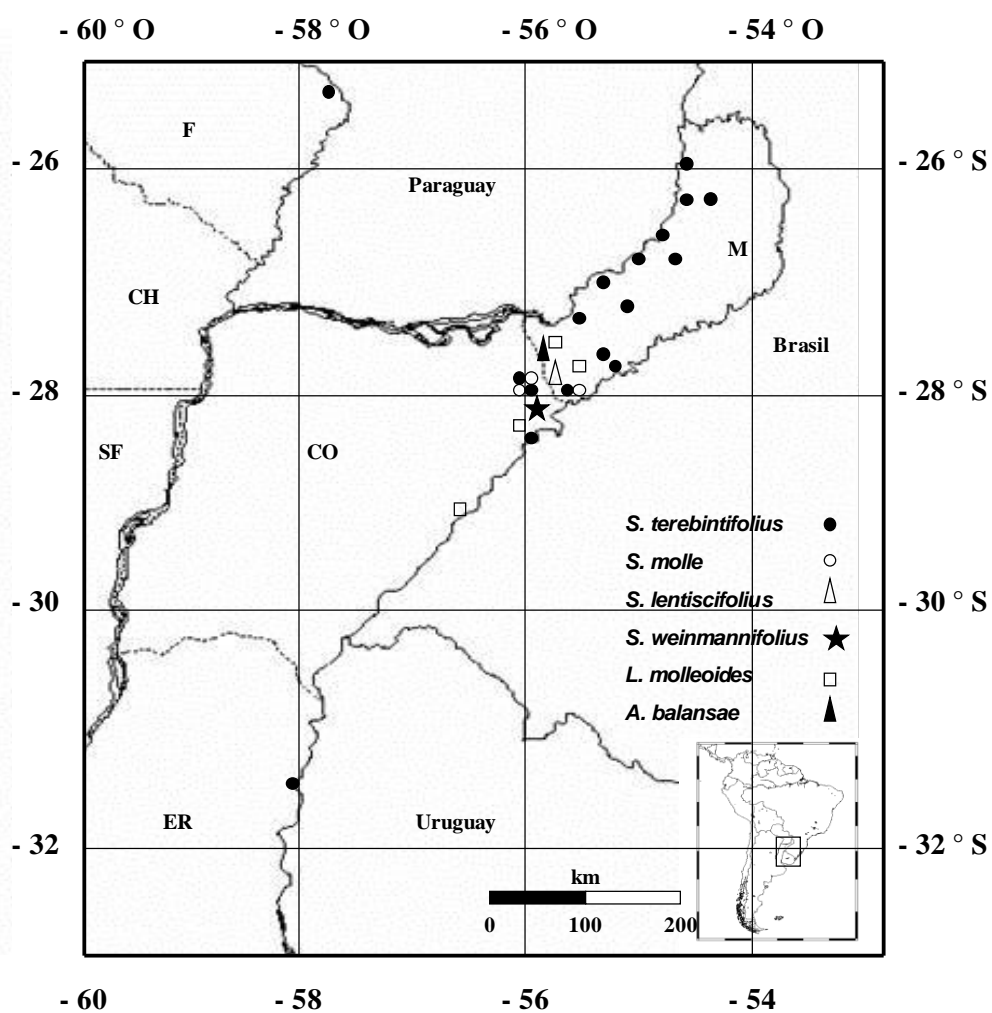
En este capítulo se plantea la hipótesis de que los artrópodos fitófagos específicos de una determinada planta huésped se encuentran en el área nativa de esta, poniendo a prueba la predicción de que en la Argentina habrá artrópodos fitófagos específicos que utilizan (*e.g.* alimentación, oviposición, desarrollo) a *S. terebinthifolius*. En consecuencia, se plantearon los siguientes objetivos: a) identificar los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* a través de exploraciones en la Argentina; b) analizar la completitud de las exploraciones a través de la realización de curvas de acumulación de especies y estimadores de riqueza de especies y c) seleccionar los artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* para estudios adicionales.



## 2.2 Materiales y métodos

### 2.2.1 Exploración

El área inspeccionada fue seleccionada en base a los registros bibliográficos de la distribución de *S. terebinthifolius* en la Argentina que abarca las provincias fitogeográficas de la Selva Paranaense y Espinal (Corrientes y Misiones) (Muñoz 2000). Se inspeccionaron alrededor de 25 sitios en 25 viajes exploratorios realizados por los principales caminos de las provincias de Corrientes y Misiones entre 2004 y 2012 (Fig. 3).



**Figura 3.** Principales sitios de recolección de artrópodos fitófagos asociados a *Schinus terebinthifolius* y otras Anacardiaceae. CH: Chaco, CO: Corrientes, ER: Entre Ríos, F: Formosa, M: Misiones, SF: Santa Fe.

La mayoría de los sitios fueron visitados dos-cuatro veces al año para registrar variaciones estacionales en la presencia y abundancia de los artrópodos fitófagos. Los viajes tuvieron una duración aproximada de cinco a siete días, incluyendo de uno a tres recolectores y un tiempo de muestreo empleado en cada sitio que no excedió las dos horas. Se inspeccionaron plantas de *S. terebinthifolius* creciendo en forma aislada en lugares poco modificados (manchones de vegetación nativa) o en bordes de caminos sometidos a cortes periódicos mediante el uso de maquinaria (tractores). Los artrópodos fitófagos fueron recolectados a mano, sacudiendo la vegetación mediante una vara y recogiendo lo caído en una tela de 1m<sup>2</sup> (técnica de *beating*) y recolectando hojas, secciones del tallo y frutos. Las plantas jóvenes (hasta 1,5 m de altura), se inspeccionaron en su totalidad, mientras que en el caso de las plantas maduras, se inspeccionaron las ramas a las que se tenía acceso desde el suelo. El material recolectado se colocó en recipientes plásticos transparentes de tres litros con un agujero circular en la tapa, cubierto con gasa de poliéster para permitir la ventilación, y provisto con hojas frescas de la planta huésped cuando fue necesario. Una vez acondicionado, se transportó a la Fundación para el Estudio de Especies Invasivas (FuEDEI), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina donde se conservó en condiciones controladas de temperatura (25±2 °C), humedad relativa (60-80%) y fotoperiodo (14:10 L:O). Se procuró la obtención de especímenes adultos para su identificación por parte de taxónomos especialistas hasta el menor nivel taxonómico posible y para la realización de estudios adicionales. Especímenes de referencia de los fitófagos recolectados fueron depositados en la colección de la FuEDEI y en el Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (MACN) cuando se trató de ejemplares tipo de especies nuevas. Cuando la identificación de artrópodos fitófagos a nivel de especie fue posible, se realizó una extensa revisión bibliográfica para identificar asociaciones de dicha especie con plantas huéspedes. La misma fue realizada consultando material impreso, bases de datos computarizadas (*i. e.* Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina y sus

plantas asociadas (<https://fuedei.org/catalogo/>), CABI-Invasive Species Compendium (<https://www.cabi.org/isc/>), National Agricultural Library digital desktop library ([https://digitop.nal.usda.gov/digitop\\_interim/proxy\\_stop403.html](https://digitop.nal.usda.gov/digitop_interim/proxy_stop403.html)), HOSTS - a Database of the World's Lepidopteran Hostplants (<http://www.nhm.ac.uk/our-science/data/hostplants/search/index.dsml>), etc.).

### 2.2.2 Evaluación de las exploraciones realizadas

Se analizó la completitud de las exploraciones en busca de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en la Argentina a través del trazado de curvas de acumulación de especies en base a distintos estimadores de la riqueza de especies. Teniendo en cuenta que la mayor parte de los sitios fueron visitados en todos los viajes exploratorios, se consideró toda el área de distribución de *S. terebinthifolius* en la Argentina como un único sitio y los viajes exploratorios como medida de esfuerzo de muestreo. Las curvas de acumulación de especies y los estimadores de riqueza se calcularon utilizando el programa *EstimateS* versión 9 (Colwell 2013) sobre una matriz obtenida de una tabla de datos de presencia-absencia de especies en los distintos viajes realizados. Considerando la ambigüedad que existe sobre la precisión de los estimadores de la riqueza, se calcularon tres estimadores no paramétricos a partir de la matriz de datos de presencia-absencia: *jack2*, *bootstrap* y *Chao 2* (Chao 1987; Melo & Froehlich 2001; Merlo *et al.* 2010). La completitud de las inspecciones realizadas en el área de estudio se determinó como la proporción de la riqueza de especies observada y estimada.

### 2.2.3 Criterios de selección de artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico

Los criterios utilizados para seleccionar los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* con mayor potencial como agentes de control biológico incluyeron: el conjunto de plantas huéspedes conocidos a partir de registros bibliográficos, la secuencia del descubrimiento, la frecuencia y abundancia en el campo, la facilidad de establecer una cría en el laboratorio, el nivel de daño y la especificidad en el campo, siendo esta última una variable de gran relevancia.

La especificidad en el campo de los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* se determinó inspeccionando las partes aéreas de las plantas de poblaciones de otras especies de Anacardiaceae coexistiendo con *S. terebinthifolius*. La lista de especies de plantas a incluir en los estudios de especificidad se elaboró principalmente en base al método centrífugo filogenético (Wapshere 1974), teniendo en cuenta también la coexistencia geográfica con *S. terebinthifolius*, importancia económica, disponibilidad y similitudes ecológicas con la planta invasora (Briese & Walker 2002; Briese 2003). Las especies inspeccionadas fueron las siguientes: *Astronium balansae* Engl., *Lithrea molleoides* (Vell.) Engl., *Schinus fasciculatus* (Griseb.), *Schinus lentiscifolius* March., *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg., *Schinus molle* L. y *Schinus weinmannifolius* Engl. Se herborizaron muestras de las especies estudiadas para confirmar su identificación y depositarlas en la colección de la FuEDEI.

Otro criterio en la selección de potenciales agentes de control biológico de plantas invasoras es la susceptibilidad de los mismos a enemigos naturales (*e.g.* parasitoides) (McClay & Balciunas 2005; Zalucki & van Klinken 2006). Por ello es recomendable seleccionar potenciales agentes de control biológico que posean un bajo número de parasitoides en su área de origen y /o que no tengan "análogos ecológicos" (*i.e.* especies relacionadas taxonómicamente que poseen un nicho

similar y que se alimentan de la especie invasora a controlar) en el área invadida por la maleza invasora (Paynter *et al.* 2010).

Cuando la revisión bibliográfica indicaba que los artrópodos fitófagos encontrados en el presente estudio eran generalistas, plagas agrícolas, o estaban registrados en el área invadida por *S. terebinthifolius* en EUA, se los descartaba como agentes de control biológico.

La frecuencia de recolección de cada artrópodo fitófago colectado se estimó a partir del porcentaje de apariciones en los sitios inspeccionados categorizándolos como “raro”, “ocasional” o “frecuente” si estuvieron presentes hasta 10%, del 11-30% o en más de 30% de los sitios, respectivamente. La abundancia de cada fitófago se calculó como el número total colectado a lo largo de todos los muestreos y fueron categorizados como “\*”, “\*\*” o “\*\*\*” según se encontraron: ≤10 individuos; de 11-30 individuos; o >30 individuos en los sitios, respectivamente. El nivel de daño de los distintos tipos de enemigos naturales (*i.e.* minadores, barrenadores, masticadores) se categorizó como “bajo”, “medio” o “alto” en una escala cualitativa-subjetiva, según las distintas partes de la planta (*i.e.* hojas, tallos, ápices terminales) estuvieran dañadas en ≤30%; 31-50%, o >50%, respectivamente respectivamente. Estas observaciones a campo brindaron indicios acerca del potencial de los enemigos naturales para reducir tejido fotosintético y/o interrumpir o disminuir el crecimiento de la planta huésped. No se cuantificaron reducciones de partes reproductivas, ni mortalidad de renovales o plantas.

#### 2.2.4 Estudios preliminares de especificidad

Se realizaron pruebas de especificidad con algunos enemigos naturales de *S. terebinthifolius*. En las pruebas se incluyeron especies de plantas seleccionadas en base a su cercanía taxonómica y coexistencia geográfica con *S. terebinthifolius*, importancia económica y disponibilidad. La clasificación de las Anacardiaceae adoptada reconoce la subfamilia Anacardioideae (tribus:

Anacardiaceae, Dobineae, Rhoeeae, y Semecarpeae) y la subfamilia Spondioideae (tribu Spondiadeae) (Pell 2004, Mitchell *et al.* 2006, APG III 2009). También se incluyeron 3 especies de Sapindaceae, *Cardiospermum grandiflorum* Swartz, *Sapindus saponaria* L. (también nativo de Norte América) y *Serjania glabrata* Kunth, emparentadas con las Anacardiaceae dentro del orden Sapindales (Gadek *et al.* 1996; Pell 2004; APG III 2009). Las especies de *Pistacia*, *P. vera*, Kerman (Pistacho) y *P. integerrima* Stewart ex. Brandis (especie comúnmente utilizada como pie para injertar *P. vera*), recibieron especial atención, por presentar compuestos químicos (terpenos) similares a los presentes en *S. terebinthifolius* (Campello & Marsaioli 1975) y por tratarse de un cultivo de gran importancia en EUA (FAOSTAT 2013). Plantas de *P. vera* y *P. integerrima* fueron compradas en viveros de plantaciones de Pistacho en la Provincia de San Juan.

A continuación se detalla la metodología de los estudios preliminares de especificidad:

*-Acaro eriófito. Estudios de transferencia a otras especies de Anacardiaceae a campo.* Los estudios se realizaron en dos sitios con poblaciones de *S. terebinthifolius* con síntomas de daño del ácaro en hojas (deformadas). En cada sitio, los tallos principales de plantas en macetas de *L. molleoides* (1), *S. areira* (1), *P. integerrima* (1) y *S. terebinthifolius* (2) (control) se ataron al tallo principal de plantas de *S. terebinthifolius* con síntomas de daño del ácaro. Al cabo de 40 días, en uno de los sitios, se registraron hojas con daño del ácaro en las plantas en maceta de *S. terebinthifolius* (2) y en *L. molleoides* (1) (Tabla 4).

*Estudios de transferencia del ácaro a otras especies de Anacardiaceae en laboratorio.* La planta en maceta de *S. terebinthifolius* cuyas hojas adquirieron el daño del ácaro en el experimento de campo, fueron llevadas a la FuEDEI para intentar la transferencia del ácaro a otras especies de Anacardiaceae mediante dos métodos. En uno, el tallo de las dos plantas en maceta de *S. terebinthifolius* con daño del ácaro, se ataron con los tallos de plantas en maceta de *Pistacia vera* (1) y *P. integerrima* (1). Los tallos de las plantas se ataron con un alambre forrado en cartón para

no dañar los tejidos vegetales. En otro método, hojas cortadas de *S. terebinthifolius* con daño fresco del ácaro recolectadas en el campo, se pusieron en contacto con hojas de distintas especies de Anacardiaceae (*P. integerrima* (2), *L. molleoides* (1), *S. areira* (1), *M. indica* (2), y *S. terebinthifolius* (2, control) en macetas y envueltas en film de poli vinil cloruro (PVC).

-*Apocnemidophorus blandus* Pascoe (Coleoptera: Curculionidae). La posibilidad de recolectar grandes cantidades de adultos de *A. blandus* (600-800) permitió realizar estudios de preferencia de alimentación y de oviposición de adultos en una prueba de opción múltiple. En dos jaulas de 8 m<sup>3</sup> con paredes de tela mosquitera plástica ubicadas en el jardín de la FuEDEI, se colocaron 2 plantas en maceta de cada una de las siguientes especies: *S. terebinthifolius*, *S. areira*, *M. indica* L. (mango), *P. vera* y *P. integerrima*. Las plantas, de follaje y altura (1-1,5 m) similares, se dispusieron formando un círculo dentro de la jaula y sus posiciones fueron designadas al azar. Se liberaron 80 adultos en el centro de cada jaula. Al cabo de 60 días, se extrajeron los adultos sobrevivientes de las jaulas, se evaluó el daño de alimentación en las hojas y se revisaron tallos y raíces de las plantas en busca de oviposiciones.

- *Leurocephala schinusae* Davis & Mc Kay (Lepidoptera: Gracillariidae). Se evaluó la preferencia de oviposición de *L. schinusae* en un diseño de opción pareada: *S. terebinthifolius* vs. *P. vera*. Adultos (15-20) de *L. schinusae* fueron confinados en una manga cilíndrica de gasa de poliéster (20 cm de diámetro por 60 cm de largo) envolviendo tallos de dos plantas en maceta de *S. terebinthifolius* y *P. vera*. Se realizaron tres repeticiones simultáneas.

-*Paectes obrotunda* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). Se evaluó el desarrollo de larvas neonatas en *S. terebinthifolius* (5 réplicas; 3 larvas/rep.), *Lithrea molleoides* (3 réplicas; 3 larvas/rep.) y *P. vera* (5 réplicas; 3 larvas/ rep.) en un diseño sin opción en recipientes plásticos de 500 cm<sup>3</sup>.

- *Tecmessa elegans* Schaus (Lepidoptera: Notodontidae). En un diseño sin opción en recipientes plásticos de 500 cm<sup>3</sup>, se evaluó el desarrollo larval hasta el estado adulto en siete especies de

Anacardiaceae (*S. terebinthifolius*, *A. balansae*, *L. molleoides*, *Mangifera indica* L., *P. vera*, *P. integerrima*, *Schinopsis balansae* Engl., *S. areira*, *S. lentiscifolius* y *S. molle*) y en dos especies de Sapindaceae (*Cardiospermum grandiflorum* Sw. y *Serjania glabrata* Kunth.).

## 2.3 Resultados y Discusión

### 2.3.1 Exploración

En uno de los primeros viajes se registró la presencia de *S. terebinthifolius* sobre la Ruta Nacional N°14 (Km 278-279), en cercanías de la ciudad de Concordia, constituyendo la primera cita de la especie para la provincia de Entre Ríos (Fig. 3). La población de *S. terebinthifolius* hallada en Entre Ríos extiende la distribución de esta especie aproximadamente 350 km hacia el sur respecto de los registros históricos (Muñoz 2000).

En total se encontraron 40 insectos y un ácaro eriófido asociados a las hojas, tallos y frutos de *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae al cabo de 25 viajes exploratorios (Tabla 1). El número de enemigos naturales de *S. terebinthifolius* en el presente estudio resultó similar al número listado por Krauss (1963) y d'Araujo e Silva *et al.* (1968) (Tablas 2 y 3). Los insectos pertenecieron a los órdenes Hemiptera (1 especie), Thysanoptera (1 especie), Coleoptera (17 especies), Lepidoptera (18 especies), Diptera (1 especie) e Hymenoptera (2 especies) (Tabla 1). El 60% de los enemigos naturales fueron encontrados en menos del 10% de los sitios ("raros") y en un bajo número ( $\leq 10$  de individuos), mientras que 21% fueron encontrados en forma frecuente y abundante. De los 41 enemigos naturales encontrados, 26 fueron encontrados únicamente sobre *S. terebinthifolius*, seis se encontraron alimentándose además de otras especies de *Schinus*, y ocho se encontraron alimentándose de *S. terebinthifolius*, *Schinus* spp. y otros géneros de Anacardiaceae (*Astronium* y *Lithrea*). De los 40 insectos asociados a *S. terebinthifolius* en el presente estudio, 12 estaban previamente registrados en listados de enemigos naturales de *S. terebinthifolius* en Sudamérica



(Tabla 1). El presente estudio agrega 29 enemigos naturales de *S. terebinthifolius* adicionales (Tabla 2), de los cuales al menos 5 fueron identificados como nuevas especies (*Contarinia* n. sp., Gelechiidae nov. gen. nov. sp., *Leurocephala schinusae*, *Marmara* n. sp. y *Paraleucothrips* n. sp.) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Artrópodos fitófagos asociados a *Schinus terebinthifolius* y otras Anacardiaceae en la Argentina.

Artrópodos fitófagos	Plantas huéspedes	Tipo y nivel de daño	Frecuencia/ Abundancia
Eriophyoidea Diptilomiopidae			
Género? sp.	<i>S. terebinthifolius</i> <i>S. lentiscifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Deformación de las hojas/alto	Frecuente/***
Hemiptera Psyllidae			
<i>Calophya terebinthifolii</i> Burckhardt & Basset <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	Agallas en las hojas/bajo	Frecuente/***
Thysanoptera Thripidae			
<i>Paraleucothrips</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/medio	Frecuente/***
Coleoptera Bruchidae			
<i>Lithraeus atronotatus</i> (Pic) <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	Frutos/bajo	Ocasional/*
Cerambycidae			
<i>Compsibidion vanum</i> (Thomson) <i>Ommata</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Barrenadores del tallo/bajo	Raro/*
Curculionidae			
<i>Apocnemidophorus blandus</i> Hustache <sup>a</sup>	<i>A. balansae</i> <i>L. molleoides</i> <i>S. lentiscifolius</i> <i>S. longifolius</i> <i>S. molle</i> <i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Barrenador/ alto	Frecuente/***
<i>A. pipitzi</i> (Faust) <sup>a</sup>	<i>L. molleoides</i> <i>S. molle</i> <i>S. terebinthifolius</i>	Barrenador del tallo/medio	Ocasional/*
<i>A. rufescens</i> Hustache	<i>L. molleoides</i> <i>S. molle</i> <i>S. terebinthifolius</i>	Barrenador/ bajo	Raro/*

**Tabla 1.** (continuación).

	<i>Compsus</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
	<i>Conotrachelus sobrinus</i> Boheman	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Centrinus argentinensis</i> Hustache	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Entimus imperialis</i> (Forster)	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Hadromeropsis</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Linogeraeus</i> sp. 1	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Linogeraeus</i> sp. 2	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Nicentrus</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
	<i>Xystus</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Recolectado sobre flores/bajo	Raro/*
Chrysomelidae				
	<i>Percolaspis varia</i> (Lefèvre)	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Ocasional/**
Clytrinae	<i>Themesia auricapilla</i> Baly	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Ocasional/*
Lepidoptera				
Cesidosidae	<i>Cecidonius?</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i> <i>L. molleoides</i>	Agallas en tallos y pecíolos/bajo	Frecuente/**
Gelechiidae	<i>Crasimorpha infuscata</i> Hodges <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Agallas en tallos/medio	Frecuente/***
	sp.	<i>S. terebinthifolius</i> <i>L. molleoides</i>	Minador de folíolos/medio	Frecuente/***
Geometridae	<i>Oospila pallidaria</i> Schaus	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
	<i>Glena bipennaria</i> Guenée	<i>S. terebinthifolius</i> <i>L. molleoides</i>	Hojas/bajo	Raro/*
	<i>Iridopsis panopla</i> Prout	<i>S. terebinthifolius</i> <i>A. balansae</i>	Hojas/bajo	Raro/*
	<i>Oxydia distichata</i> Guenée	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
Gracillariidae	<i>Leurocephala schinusae</i> Davis & Mc Kay	<i>S. terebinthifolius</i> <i>S. longifolius</i>	Minador de folíolos/medio	Frecuente/***
	<i>Marmara</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Minador de tallo/bajo	Raro/*
Mimallonidae	<i>Aceclostria mus</i> Vuillet	<i>A. balansae</i> <i>L. molleoides</i> <i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Hojas/bajo	Ocasional/*

**Tabla 1.** (continuación)

Nepticulidae	<i>Stigmella</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Minador de folíolos/bajo	Frecuente/*
Noctuidae				
	<i>Paectes obrotunda</i> (Guenée) <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Frecuente/**
	<i>Eutelia abscondens</i> Walker	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
Notodontidae				
	<i>Tecmessa elegans</i> Schaus <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Hojas/alto	Ocasional/**
	<i>Nystalea ebalea</i> Stoll <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
Saturniidae	<i>Citheronia laocoon</i> (Cramer)	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
Sphingidae	<i>Protambulyx strigilis</i> (L.) <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/bajo	Raro/*
Tortricidae	<i>Episimus unguiculus</i> Clarke <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i>	Hojas/medio	Frecuente/***
Diptera				
Cecidomyiidae				
	<i>Contarinia</i> sp.	<i>S. terebinthifolius</i>	Agallas en los folíolos/bajo	Raro/*
Hymenoptera				
Pergidae				
	<i>Heteroperreyia hubrichi</i> Malaise <sup>a</sup>	<i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Hojas/alto	Frecuente/***
Torymidae	<i>Megastigmus transvaalensis</i> (Hussey) <sup>a</sup>	<i>S. areira</i> <i>S. terebinthifolius</i> <i>S. weinmannifolius</i>	Frutos/medio	Ocasional/**

<sup>a</sup>: Registrados previamente en listados de enemigos naturales de *S. terebinthifolius* en Sudamérica (Krauss 1963; D' Araujo e Silva *et al.* 1968; Medal *et al.* 1999; Burckhardt & Basset 2000; Martin *et al.* 2004; Scheffer & Grissell 2003).

**Tabla 2.** Contribuciones al conocimiento de la fauna de insectos fitófagos de *Schinus terebinthifolius* en Sudamérica.

Exploraciones	Año	Insectos asociados a <i>S. terebinthifolius</i>	Especies de insectos adicionales
Krauss	1963	31	31
d'Araujo e Silva <i>et al.</i>	1968	30	-
Mc Kay (esta tesis)	2019	40	28

**Tabla 3.** Grupos de insectos fitófagos de *Schinus terebinthifolius* en inspecciones realizadas en Sudamérica.

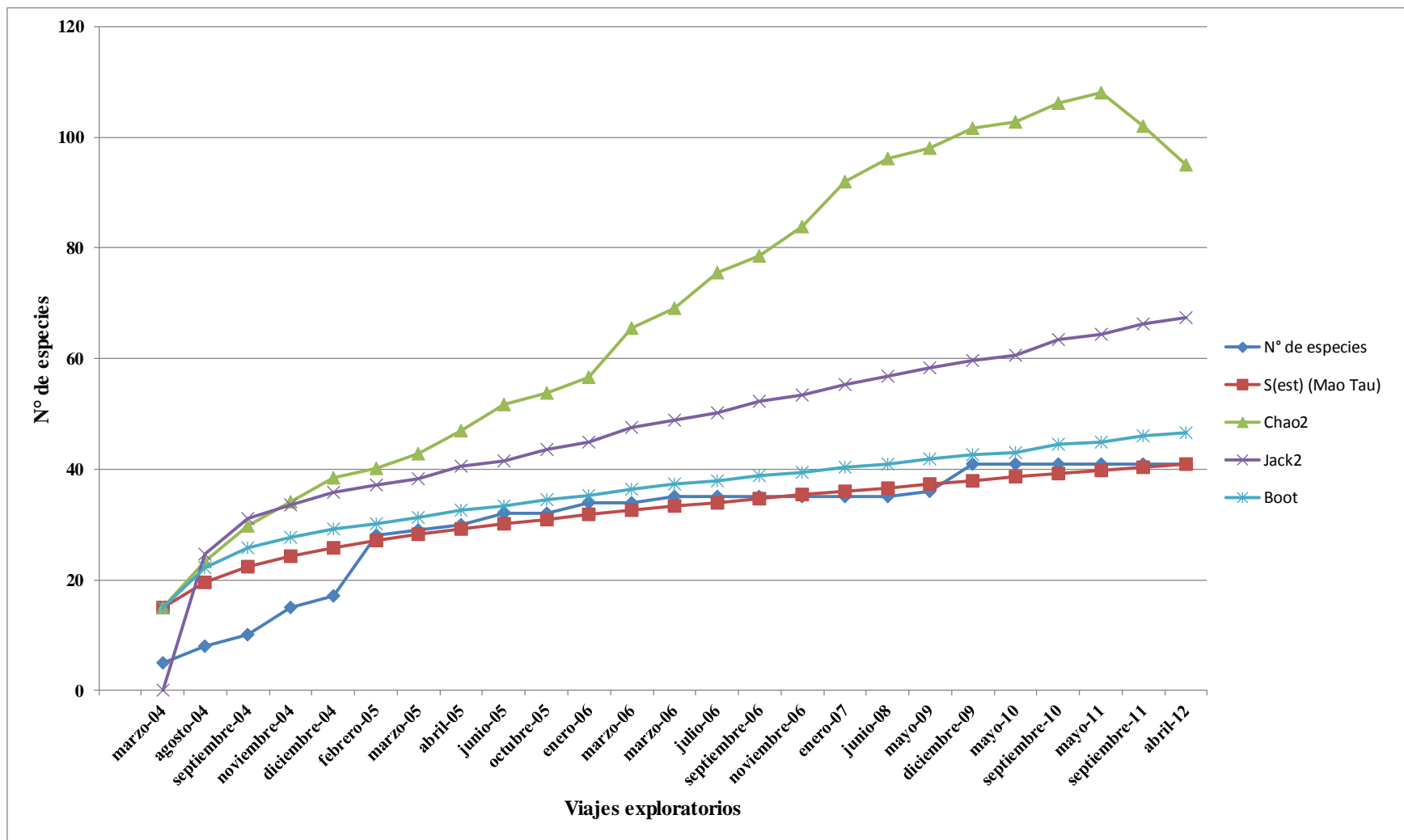
Orden	Krauss (1963)	D' Araujo e Silva <i>et al.</i> (1968)	Mc Kay (2019)
Orthoptera	-	2	-
Thysanoptera	-	1	1
Hemiptera	1	5	1
Lepidoptera*	23 (16)	19 (6)	18 (11)
Coleoptera	3	3	17
Diptera	1	-	1
Hymenoptera	3	-	2
Total	31	30	40

\*: el número entre paréntesis corresponde a Familias de Lepidoptera.

### 2.3.2 Evaluación de las exploraciones realizadas

Al cabo de 25 viajes exploratorios, como se informó previamente, se recolectaron 41 artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius*; este número permaneció constante a partir del viaje exploratorio número 20 (Fig. 4). Al cabo de los primeros siete viajes de exploración, dentro del primer año de iniciado el proyecto, se encontró el 70% (28) de los artrópodos fitófagos encontrados en el presente estudio. En ese período se encontraron las seis especies que fueron seleccionadas para realizar estudios preliminares. En el mismo período se encontraron las tres especies que fueron introducidas para el control biológico de *S. terebinthifolius* en Hawái entre 1950-60 (*C. infuscata*, *E. unguiculus* y *L. atronotatus*) y la especie estudiada como potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en Hawái y Florida (EUA), *H. hubrichi* (Medal *et al.* 1999; Vitorino *et al.* 2000; Hight *et al.* 2003).

Los estimadores de la riqueza de especies, resultaron mayores que la riqueza de especies observada, sugiriendo que nuevas especies podrían ser recolectadas en viajes exploratorios adicionales (Fig. 4). La riqueza de especies según los distintos estimadores fue de 95 (Chao2), 67,4 (*bootstrap*) y 46,7 (Jack2), lo cual en términos de proporción de la riqueza observada y esperada representó el 43%, 61% y 88% respectivamente para los estimadores utilizados.



**Figura 4.** Curva de acumulación de enemigos naturales asociados a *Schinus terebinthifolius* basada en recolecciones realizadas en 25 viajes exploratorios en la Argentina y estimadores de riqueza de especies: jack2, bootstrap y Chao 2.

#### 2.3.4 Selección de artrópodos fitófagos con mayor potencial como agentes de control biológico

A continuación, se presenta información sobre los distintos artrópodos fitófagos encontrados y se discute su potencial como agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA.

- *Eriophuoidea* (Rhyncaphytoptinae: Diptilomiopidae). Este ácaro eriófido se registró en forma frecuente y abundante en toda el área de distribución de *S. terebinthifolius* en la Argentina (Corrientes, Entre Ríos y Misiones), deformando las hojas principalmente de plantas jóvenes (hasta 2,5 m de altura). Síntomas similares se observaron en hojas de *S. lentiscifolius* y *S. weinmannifolius* (Fig. 5).



**Figura 5.** Ácaro eriófido y daño en *Schinus terebinthifolius*. **A-** Ácaro en microscopía electrónica de barrido ambiental. **B-** daño en hoja de *Schinus terebinthifolius*.

*Estudios preliminares de especificidad Estudios de transferencia del ácaro a otras especies de Anacardiaceae a campo.* Al cabo de 40 días, en uno de los sitios, se registraron hojas con daño del ácaro en las plantas en maceta de *S. terebinthifolius* (2) y en *L. molleoides* (1) (Tabla 4). Cabe señalar que durante los muestreos realizados en el presente estudio, nunca se registró daño del ácaro en hojas de *L. molleoides* deformadas en el campo, incluso en sitios donde *L. molleoides*

coexistía con plantas de *S. terebinthifolius* con hojas dañadas por el ácaro en sus hojas. La aparición de daño en hojas de *L. molleoides* en el experimento, puede haber sido favorecida por las condiciones sombrías y húmedas del sitio, condiciones en las que *L. molleoides* no está presente naturalmente en el campo.

*Estudios de transferencia del ácaro a otras especies de Anacardiaceae en laboratorio.* Al cabo de 4 meses, no se registró ningún síntoma del ácaro ni en las especies de *Pistacia* ni en los especímenes control de *S. terebinthifolius*. En otro método, hojas cortadas de *S. terebinthifolius* con daño fresco del ácaro recolectadas en el campo, se pusieron en contacto con hojas de distintas especies de Anacardiaceae (*P. integerrima* (2), *L. molleoides* (1), *S. areira* (1), *M. indica* (2), y *S. terebinthifolius* (2, control) en macetas y envueltas en film de poli vinil cloruro (PVC). Al cabo de 30 días, no se registró daño del ácaro en ninguna de las plantas estudiadas.

Si bien el reducido número de plantas huéspedes del ácaro indican que esta especie tiene potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolius*, la imposibilidad de criar esta especie en laboratorio impidió la realización de estudios adicionales sobre la biología y especificidad de esta especie.

**Tabla 4.** Estudios preliminares de especificidad.

Especies de plantas evaluadas	Ácaro eriófido <sup>1</sup>	<i>Tecmessa</i> <i>elegans</i> <sup>2</sup>	<i>Apocnemidophorus</i> <i>blandus</i> <sup>3</sup>	<i>Leurocephala</i> <i>schinusae</i> <sup>4</sup>	<i>Paectes</i> <i>obrotunda</i> <sup>5</sup>
<b>Anacardiaceae</b>					
<i>Astronium balansae</i>	-	X	-	-	0
<i>Lithrea molleoides</i>	0/X <sup>6</sup>	X	-	-	X
<i>Mangifera indica</i>	0	0	0	-	0
<i>Pistacia integerrima</i>	0	X	X	-	-
<i>Pistacia vera</i>	-	X	X	X	X
<i>Schinus areira</i>	0	X	X	-	-
<i>Schinus lentiscifolius</i>	-	X	-	-	-
<i>Schinus molle</i>	-	X	-	-	-

**Tabla 4** (continuación)

<i>Schinus terebinthifolius</i>	X	X	X	X	X
<i>Schinopsis balansae</i>	-	X	-	-	-
<b>Sapindaceae</b>					
<i>Cardiospermum</i>	-	0	-	-	-
<i>grandiflorum</i>					
<i>Sapindus saponaria</i>	-	0	-	-	-
<i>Serjania glabrata</i>	-	0	-	-	-

<sup>1</sup> 'X' indica daño/hojas deformadas; '0' sin daño/hojas deformadas y '-' no evaluada. <sup>2</sup> 'X' indica desarrollo larval y emergencia de adultos; '0' sin alimentación/desarrollo larval; and '-' no evaluada. <sup>3</sup> 'X' indica alimentación de adultos; '0' indica ausencia de alimentación; and '-' no evaluada. <sup>4</sup> 'X' indica oviposición; '0' indica no oviposición; y '-' no evaluada. <sup>5</sup> 'X' indica desarrollo larval y emergencia de adultos; '0' sin alimentación/desarrollo larval; y '-' no evaluada. <sup>6</sup>: resultado a campo.

### *Insectos*

- *Calophya terebinthifolii* Burckhardt & Basset (Hemiptera: Psillidae). Agallas en los folíolos de *S. terebinthifolius* producidas por este psílido, se encontraron en forma frecuente y abundante en numerosos sitios de las provincias de Corrientes y Misiones. Agallas similares fueron encontradas en folíolos de otras especies de *Schinus*: *S. lentiscifolius*, *S. longifolius* y *S. molle*. De amplia distribución en Brasil (Burckhardt & Basset 2000), *C. terebinthifolii* ha sido estudiado y propuesto como un agente potencial de control biológico de *S. terebinthifolius* (Vitorino *et al.* 2011; Christ *et al.* 2013). Actualmente investigadores de la Universidad de Florida (EUA) y de la Universidad de Blumenau (Brasil) están realizando estudios adicionales para determinar el potencial de *C. terebinthifolii* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* (Vitorino comunicación personal). Además, otra especie de *Calophya* formadora de agallas en los folíolos, *C. latiforceps* Burckhardt, hallada en 2010 en el norte de Brasil (estado de Bahia), ha sido estudiada y propuesta para ser introducida en EUA como agente de control de *S. terebinthifolius* (USDA APHIS 2018). Por estas razones, no se planteó la realización de estudios adicionales sobre *C. terebinthifolii* en el presente trabajo.



- *Paraleucothrips* sp. (Thysanoptera: Thripidae). Un trips identificado como nueva especie (Dr. Nakahara, Systematic Entomology Laboratory, USDA-ARS), se encontró en forma frecuente y abundante sobre *S. terebinthifolius* en numerosos sitios en el noreste de la Argentina (Corrientes y Misiones). Ninfas y adultos de color anaranjado se encontraron mayormente en los brotes de plantas de mediano tamaño (1-2,5m) de *S. terebinthifolius*. Los brotes dañados lucían deformados y mustios, y con puntos amarillos en las hojas correspondientes a las oviposiciones.

En observaciones preliminares en el laboratorio, se observó una preferencia de *Paraleucothrips* sp. por plantas pubescentes (*S. terebinthifolius* var. *pholiana*) respecto de plantas glabras (*S. terebinthifolius* var. *acutifolius*). Imágenes de las hojas obtenidas en un microscopio electrónico de barrido ambiental, mostraron una mayor densidad de pelos en las hojas de *S. terebinthifolius* var. *pholiana* en comparación con *S. terebinthifolius* var. *acutifolius*. Para confirmar estas observaciones, se decidió realizar un experimento preliminar en condiciones de campo. Plantas de *S. terebinthifolius* en maceta (6 pubescentes y 8 glabras) se dispusieron en un sitio ubicado en la banquina de la Ruta Nacional N° 14 en cercanías de Gobernador Virasoro, Corrientes. Tallos de plantas en maceta sin daño de trips se ataron con alambre forrado en papel a tallos de plantas pubescentes de *S. terebinthifolius* con ninfas y adultos de *Paraleucothrips* sp. El sitio fue visitado en cuatro oportunidades a lo largo de un año. En todas las visitas, huevos, ninfas y adultos de *Paraleucothrips* sp. se encontraron únicamente en plantas de *S. terebinthifolius* pubescentes, confirmando las observaciones en el laboratorio. La preferencia de *Paraleucothrips* sp. por plantas pubescentes de *S. terebinthifolius* tiene relevancia, ya que en EUA predominan mayormente plantas glabras de *S. terebinthifolius*. En viajes exploratorios realizados en Brasil, en busca de enemigos naturales de *S. terebinthifolius*, nunca se registró la presencia de *Paraleucothrips* sp. en la variedad glabra de *S. terebinthifolius* presente en dicho país (Wheeler & Mc Kay inédito). Teniendo en cuenta la preferencia observada de *Paraleucothrips* sp. por plantas pubescentes de *S.*

*terebinthifolius* (poco representadas en EUA), se decidió no realizar estudios adicionales con esta especie como potencial agente de *S. terebinthifolius* en EUA.

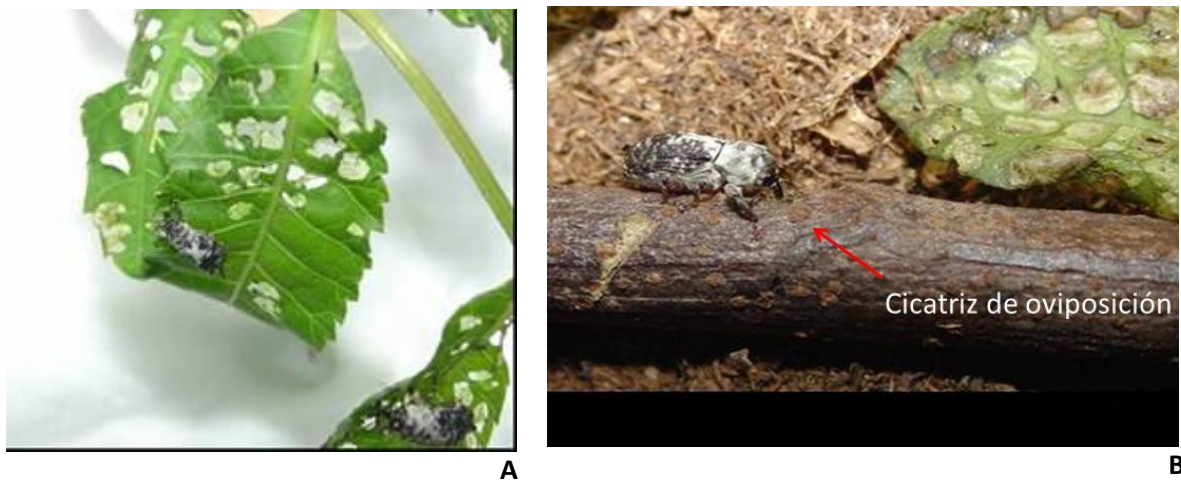
- *Lithraeus atronotatus* (Pic) (Coleoptera: Bruchidae). Esta especie fue introducida desde Brasil y liberada en Hawái para el control de *S. terebinthifolius* (Krauss 1963). En el presente estudio, se registró la emergencia de adultos de *L. atronotatus* a partir de la recolección de frutos maduros de *S. terebinthifolius*, en baja abundancia y en forma poco frecuente. Por esta razón no fue posible establecer una colonia del insecto en el laboratorio y realizar estudios de biología y especificidad. Además, teniendo en cuenta que en EUA ya existe una especie exótica (*M. transvaalensis*) desarrollándose en los frutos de *S. terebinthifolius* (Habeck *et al.* 1989), se decidió no realizar estudios adicionales con *L. atronotatus* como potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius*.

- *Compsibidion vanum* y *Ommata* sp. (Coleoptera: Cerambycidae). Adultos de estas especies se obtuvieron recolectando ramas caídas de *S. terebinthifolius* en cercanías de la localidad de Wanda, Misiones. Es sabido que las larvas de especies pertenecientes a los géneros *Compsibidion* y *Ommata* se crían en madera muerta (Di Iorio, comunicación personal). Las 4 especies de *Compsibidion* y 3 especies de *Ommata* citadas para Argentina poseen entre 2-3 plantas huéspedes pertenecientes a las familias Fabaceae, Sapindaceae, Moraceae y Anacardiaceae (Di Iorio 2004). La baja densidad y frecuencia de estas especies en el campo no permitió realizar estudios que permitieran aclarar aspectos de su biología y conjunto de plantas huéspedes.

- *Apocnemidophorus* spp. (Coleoptera: Curculionidae). Existían registros previos para *A. blandus* en Brasil, Paraguay y Uruguay sin hacer mención a ninguna planta huésped (Wibmer & O'Brien

1986). En el presente estudio, se registró la presencia de *A. blandus* alimentándose de las hojas de *S. terebinthifolius*, *A. balansae*, *L. molleoides*, *S. lentiscifolius*, *S. longifolius*, *S. molle* y *S. weinmannifolius* constituyendo nuevos registros para esta especie en la Argentina. Los adultos de *A. blandus* (0,7- 1 cm de largo) poseen el protorax y la parte anterior de los élitros cubiertos con escamas blancas y dos pequeñas protuberancias de escamas negras en el extremo posterior de los élitros. Los adultos se encontraron habitualmente alimentándose o en reposo en la cara abaxial de las hojas. El daño de alimentación característico de *A. blandus* consistía en pequeños orificios ubicados en el margen de los folíolos (Fig. 6A). Los adultos se desprendían de las hojas ante la menor perturbación de las ramas. Por esa razón, la mayor cantidad de adultos fueron recolectados mediante la técnica de *beating*.

La ausencia de larvas alimentándose en forma externa en el campo, hizo suponer un hábito minador de tallos y/o raíces de las larvas de esta especie. Se registró la presencia de huevos luego de 72h de confinar adultos (4) en recipientes plásticos (1000cm<sup>3</sup>) conteniendo trozos de raíces enterrados en turba. Los mismos fueron colocados en forma individual en un agujero previamente



**Figura 6.** *Apocnemidophorus blandus*. **A-** Adulto alimentándose de *S. terebinthifolius*. **B-** Adulto y oviposición en tallo de *Schinus terebinthifolius*.

confeccionado por la hembra con sus piezas bucales y cubiertos por aserrín (Fig. 6B).

En los estudios de preferencia de alimentación y oviposición, a excepción de *M. indica*, *A. blandus* se alimentó de todas las especies presentes en la jaula (Tabla 4). No se registraron oviposiciones en los tallos y raíces de ninguna de las especies evaluadas, inclusive de *S. terebinthifolius* (control).

El amplio número de plantas huéspedes utilizadas en el campo por *A. blandus* para alimentarse, sumado al daño de alimentación de los adultos de *A. blandus* sobre *Pistacia* spp. en laboratorio, indican un conjunto de plantas huéspedes demasiado amplio para considerar a *A. blandus* como potencial agente de *S. terebinthifolius* en EUA. Por estas razones, no se planteó la realización de estudios adicionales con esta especie.

Otras dos especies de *Apocnemidophorus*, *A. pipitzi* (Faust) and *A. rufescens* (Pascoe), fueron recolectadas sobre *S. terebinthifolius* en la Argentina. Existían registros previos para *A. pipitzi* sobre *S. terebinthifolius* en Brasil, Argentina y Uruguay sin hacer mención a ninguna planta huésped (Wibmer & O'Brien, 1986). En el presente estudio *A. pipitzi* y *A. rufescens* fueron encontradas sobre *S. terebinthifolius*, *S. molle* y *L. molleoides*, lo cual constituye nuevos registros de localidad y huésped para estas especies. Ambas fueron encontradas coexistiendo con *A. blandus* pero en menor número. Los hábitos de alimentación de los adultos (daño y localización) resultaron similares a los de *A. blandus*. Recientemente, investigadores de la Universidad de Florida (EUA), lograron establecer una colonia de *A. pipitzi* en establecimientos cuarentenarios y estudian su potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* (Cuda *et al.* 2016).

- *Compsus* sp. (Coleoptera: Curculionidae). El género *Compsus* comprende 101 especies, 90 de las cuales habitan en la región Neotropical (O'Brien & Wibmer 1982; Wibmer & O'Brien 1986). Algunas especies de *Compsus* han sido registradas como plagas de *Citrus* en Sudamérica (*Compsus*

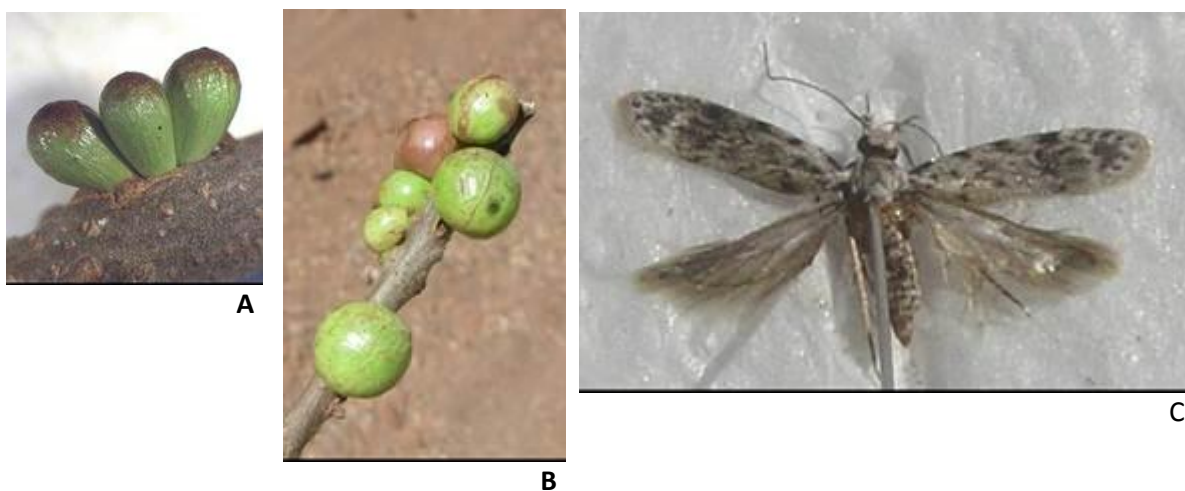
*viridivittatus*) (Gallego *et al.* 2012) y en EUA (*Compsus auricephalus*) (Woodruff 1985). Existen al menos 4 especies de *Compsus* citadas para la Argentina, cuyos huéspedes incluyen *Ilex paraguariensis* (yerba mate) y distintas especies de *Citrus* (Lanteri *et al.* 2004). En pruebas preliminares en el laboratorio con opción pareada, adultos de *Compsus* sp. se alimentaron y ovipusieron sobre hojas cortadas de *P. vera* y *S. terebinthifolius*. Considerando la información disponible, esta especie no fue tenida en cuenta como potencial agente de control de *S. terebinthifolius*.

- *Conotrachelus sobrinus* Boheman; *Centrinus argentinensis* Hustache; *Entimus imperialis* (Forster); *Hadromeropsis* sp.; *Linogeraeus* sp.1 y sp. 2; *Nicentrus* sp. y *Xystus* sp. (Coleoptera: Curculionidae). Estas 8 especies fueron recolectadas en las flores de *S. terebinthifolius*. El bajo número de especímenes recolectado en los distintos viajes y su baja frecuencia impidió la realización de estudios sobre la biología de estas especies.

- *Percolaspis varia* (Lefèvre) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Percolaspis varia* es una especie polífaga registrada sobre banana, menta, rosas, durazno, pera, manzana y arándano (Cabrera 2004; Cabrera & Rocca 2012), por lo tanto fue descartada como potencial agente de control biológico.

- *Themesia auricapilla* Baly (Coleoptera: Chrysomelidae). *T. auricapilla* pertenece a la subfamilia Clytrinae donde se conocen varias especies con larvas mirmecófilas (Moldenke 1970; Jolivet & Petitpierre 1981; Stiefel & Margolies 1998). No se realizaron estudios adicionales con esta especie.

• *Cecidonius?* sp. (Lepidoptera: Cecidosidae). La familia Cecidosidae comprende 10 especies contenidas en seis géneros que se distribuyen en el sur de África y en América del Sur (Pastrana 2004). Las especies de Cecidosidae forman agallas en la familia Anacardiaceae. En la Argentina, habitan seis especies, las cuales forman agallas en especies de *Schinus* (Pastrana 2004). En el presente trabajo, se encontraron agallas en las ramas y pecíolos de *S. terebinthifolius* en forma abundante y frecuente en distintos sitios de Corrientes y Misiones. Este hallazgo constituye la primera cita para agallas de Cecidosidae sobre *S. terebinthifolius*. Las agallas huecas cilíndrico-ovoides (1 cm de alto) conteniendo una única larva de Cecidosidae, se hallaron coexistiendo en la misma rama de *S. terebinthifolius* con agallas sólidas esféricas (1-2 cm de diámetro) (Fig. 7). Recolectando ambos tipos de agallas y disecando las mismas en el laboratorio, se comprobó que las agallas esféricas sólidas eran una modificación de las agallas del Cecidosidae por la presencia de parasitoides inquilinos Bracónidos (Hymenoptera) del género *Allorhogas*. Una modificación similar es la que experimentan las agallas de *Scyrotis* sp. (Cecidosidae) en *Rhus* sp. por *Rhoophilus loewi* (Hymenoptera: Cynipidae) en África (Van Noort *et al.* 2007).



**Figura 7.** *Cecidonius?* sp. (Lepidoptera: Cecidosidae). **A-** Agallas cilíndricas huecas. **B-** Agallas esféricas producto del parasitismo. **C-** Adulto.

Recientemente, Moreira *et al.* (2017) publicaron la descripción de una especie de Cecidosidae, *Cecidonius pampeanus* Moreira & Gonçalves, que desarrolla agallas sobre *S. weinmannifolius*, una especie cercanamente emparentada con *S. terebinthifolius* en el sur de Brasil. La similitud de las agallas producidas por esta especie con las reportadas en el presente estudio sobre *S. terebinthifolius* y *L. molleoides*, indicaría que podría tratarse de la misma especie o de una especie cercana del mismo género. La complejidad del ciclo de vida de esta especie y la baja obtención de adultos, impidió el establecimiento de una cría en laboratorio y la realización de estudios adicionales.

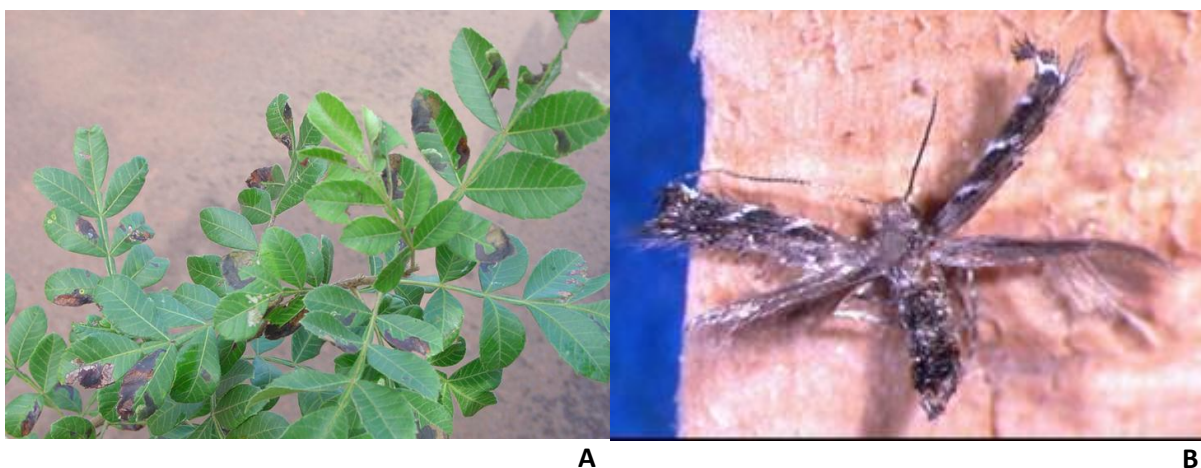
- *Oospila pallidaria* Schaus; *Glena bipennaria* Guenée; *Iridopsis panopla* Prout; *Oxydia distichata* Guenée (Lepidoptera: Geometridae). Cuatro especies de Geometridae se encontraron como larvas alimentándose en las hojas de *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae (Tabla 1). No fue posible establecer colonias de cría de ninguna de estas especies. Numerosas especies de *Glena*, *Iridopsis* y *Oxydia* son polífagas (Robinson *et al.* 2010). En pruebas de especificidad preliminares sin opción en laboratorio realizadas en EUA, larvas de *O. pallidaria* se desarrollaron hasta el estado adulto en dos especies de Anacardiaceae nativas de EUA (*Rhus sp/Comocladia sp*) y *Anacardium occidentale* (castaña de caju) (Wheeler inédito). Además, De Souza-Lopes *et al.* (2016) reportaron la presencia de *O. pallidaria* sobre *Mimosa setosa* Benth. (Fabaceae). Por otra parte, en Florida (EUA) habitan especies nativas de Geometridae alimentándose de las hojas de *S. terebinthifolius* (Wheeler comunicación personal). Considerando la información disponible, no se desarrollaron estudios adicionales con estas especies.

- *Gracillariidae* minadores de folíolos y tallos de *S. terebinthifolius*. Dos especies de dos géneros distintos de Gracillariidae (Lepidoptera), fueron encontrados minando el tallo y los folíolos de *S.*

*terebinthifolius* y otras Anacardiaceae (Tabla 1). La especie minadora de los tallos fue identificada como una nueva especie perteneciente al género *Marmara* (Davis *et al.* 2011). En Florida, ya existe otra especie de *Marmara*, *M. habecki*, que mina los tallos de *S. terebinthifolius* (Davis *et al.* 2011).

La presencia de caracteres distintivos en el minador de los folíolos de *S. terebinthifolius* encontrado en el presente estudio constituyó evidencia suficiente para describir un nuevo género y especie: *Leurocephala schinusae* Davis & Mc Kay (Davis *et al.* 2011).

*Leurocephala schinusae* resultó ser la especie de Gracillariidae más abundante y frecuente minando los folíolos de *S. terebinthifolius* en la Argentina (Fig. 8). Minas de *L. schinusae* fueron encontradas en los folíolos de *S. terebinthifolius* y *S. longifolius*. Minas similares a las de *L. schinusae* fueron encontradas en los folíolos de otras Anacardiaceae: *Astronium balansae*, *S. fasciculatus*, *S. lentiscifolius* y *S. weinmannifolius*.



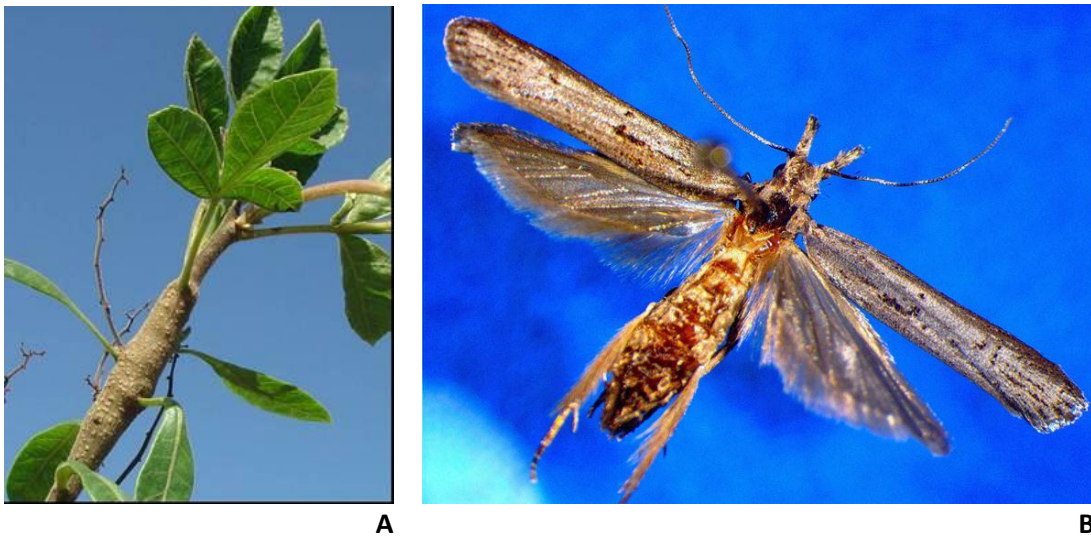
**Figura 8.** *Leurocephala schinusae*. **A**-Hojas de *Schinus terebinthifolius* con minas. **B**- Adulto.

En pruebas preliminares de laboratorio, la preferencia observada por *L. schinusae* para oviponer sobre *S. terebinthifolius* fue muy marcada, encontrándose un total de 44 huevos sobre *S. terebinthifolius* y solo 1 huevo sobre *P. vera*, al cabo de tres repeticiones. En base a estos resultados, el restringido número de plantas huéspedes registrado en el campo, el nivel de daño, la abundancia y facilidad para criar *L. schinusae* en el laboratorio, se decidió realizar estudios



adicionales de biología y especificidad para evaluar el potencial de *L. schinusae* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA (Capítulo 3).

- *Crasimorpha infusata* Hodges (Lepidoptera: Gelechiidae). Esta especie formadora de agallas en los tallos de *S. terebinthifolius*, fue recolectada en Brasil y liberada en Hawái en los años sesenta (Krauss 1963; Davis & Krauss 1962), donde no logró establecerse (Hight *et al.* 2002). En el presente estudio, agallas de *C. infusata* fueron encontradas en forma frecuente y abundante sobre *S. terebinthifolius* y *S. weinmannifolius* en numerosos sitios de las provincias de Corrientes y Misiones (Fig. 9). Los adultos (envergadura alar: 2-2,5 cm) son de color grisáceo, con tres pares de escamas negras en la porción distal de las alas anteriores (Fig. 9). Las hembras depositan huevos cilíndricos blanquecinos en forma individual en ambas caras de los folíolos, pecíolos y yemas axilares. Las larvas neonatas hacen una pequeña mina en el raquis de las hojas y luego hacen un orificio en la porción terminal de los tallos, donde se formará la agalla. Las agallas son engrosamientos elipsoidales huecos ( $5,9 \pm 0,9$  cm de largo;  $0,7 \pm 0,1$  cm de ancho (media  $\pm$  DE; n = 10) dentro de los cuales se desarrolla una única larva. Se encontraron hasta 3 agallas en un mismo



**Figura 9.** *Crasimorpha infusata*. **A-**Agalla en tallo de *Schinus terebinthifolius*. **B-** Adulto.

tallo, pero generalmente se registró la presencia de una única agalla por tallo. Antes de pupar, la larva madura debilita la pared de la agalla en la porción proximal de la misma por donde emergerá el adulto. La emergencia de adultos se produce en un período de dos semanas 40-60 días posteriores a la recolección de la agallas. El reducido número de huéspedes conocidos para *C. infuscata*, su abundancia y amplia distribución, indican que esta especie tiene potencial como agente de control de *S. terebinthifolius*. Sin embargo, la imposibilidad de criar *C. infuscata* en el laboratorio, impidió la realización de estudios adicionales.

- Gelechiidae gen. nov. sp. nov. Durante el presente trabajo, esta especie fue encontrada en forma frecuente y abundante minando los folíolos de *S. terebinthifolius* y *L. molleoides*. Un daño similar fue encontrado en Brasil sobre *L. brasiliensis* (Wheeler & Mc Kay inédito). Si bien los folíolos minados de *S. terebinthifolius* fueron recolectados en numerosas oportunidades, no fue posible criar esta especie en laboratorio y realizar estudios adicionales.

- *Aceclostria mus* Vuillot (Lepidoptera: Mimallonidae). Previamente registrada sobre *Schinus* sp. (prob. *S. fasciculatus*) en la Argentina, sobre *S. terebinthifolius* en Paraguay (Pastrana 2004) y sobre *L. brasiliensis* en Brasil (Wheeler & Mc Kay inédito). Durante el presente trabajo, *A. mus* fue encontrada alimentándose de las hojas de *S. terebinthifolius*, *S. weinmannifolius*, *A. balansae* y *L. molleoides*. Mimallonidae es una pequeña familia de la región Neotropical, cuyas larvas se alimentan de especie de Myrtaceae (*Psidium* sp.) y Anacardiaceae (Pastrana 2004). Las larvas son defoliadoras y en los últimos estadios viven dentro de un capullo que construyen con pedacitos de hojas y seda. El capullo es un cilindro hueco con ambos extremos abiertos, que está sujeto a las hojas de la planta mediante hilos de seda. Dentro del mismo, la larva expone parte de su cuerpo para alimentarse. El bajo número de larvas encontradas en el campo y un parasitismo promedio

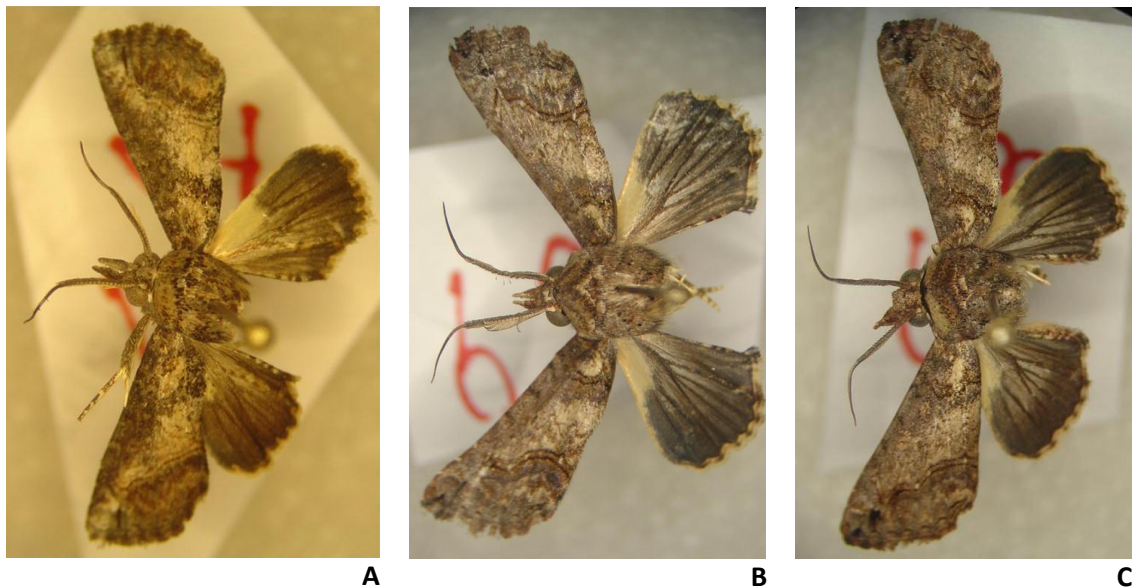
del 30% por parte de Tachinidae impidieron el establecimiento de una colonia de este insecto en el laboratorio. Sin embargo, teniendo en cuenta el reducido número de huéspedes conocido para *A. mus*, se recomienda la realización de estudios adicionales sobre la biología y especificidad de esta especie para evaluar su potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolius*.

- *Stigmella* sp. (Lepidoptera: Nepticulidae). Minas de esta especie fueron encontradas en numerosos sitios de Corrientes y Misiones en las hojas de *S. terebinthifolius*. Minas similares fueron encontradas en *S. molle*. Las larvas realizan una mina angosta serpenteante, que luego las larvas maduras abandonan para pupar en un capullo en la cara adaxial de los folíolos.

La familia Nepticulidae posee alrededor de 750 especies distribuidas en todos los continentes (Puplesis *et al.* 2002a). En la región Neotropical habitan 74 especies; para nueve de ellas se conocen algunas especies de plantas huéspedes en las familias Fagaceae (*Notofagus*), Myrtaceae, Anacardiaceae (*Schinus*) y Rhamnaceae (*Discaria*) (Nielsen 1985; Puplesis *et al.* 2002b). En Europa, *Stigmella* (= *Simplimorpha*) *promissa* tiene como huéspedes a distintas especies de Anacardiaceae: *Cotinus coggyria*, *Pistacia atlantica*, *Pistacia khinjuk*, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *P. vera* y *Rhus coriaria* (Corley *et al.* 2007; Ellis 2013). No se realizaron estudios adicionales con esta especie.

- *Paectes obrotunda* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). Larvas de este noctuido se registraron alimentándose de las hojas de *S. terebinthifolius* en forma frecuente y medianamente abundante desde Entre Ríos a Misiones. En estudios preliminares de laboratorio, larvas de *P. obrotunda* lograron desarrollarse hasta el estado adulto en *S. terebinthifolius* (5 adultos), *Lithrea molleoides* (1 adultos) y *P. vera* (1 adulto) (Tabla 4).

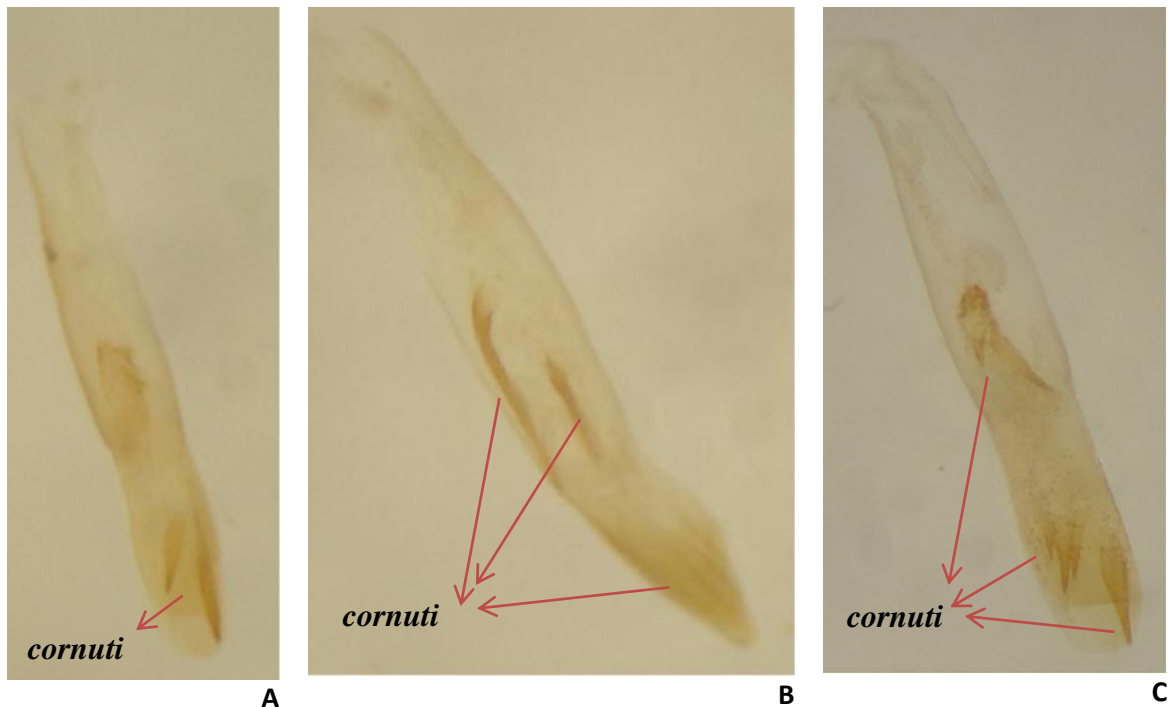
Si bien el hábito y la morfología de las larvas de *P. obrotunda* recolectadas resultaba similar, el patrón alar de los especímenes adultos mostraba algunas diferencias (Fig. 10). Ello motivó el estudio de la morfología de los genitales de especímenes macho. Para ello se disecaron los abdómenes de especímenes adultos y se maceraron en un baño de hidróxido de potasio (KOH) a temperatura ambiente por 24h. Las observaciones de los genitales de 6 machos, en especial, la variable morfología de los *cornuti* en el *aedeagus* (Fig. 11), indicarían la existencia de especies nuevas de *Paectes* para la Argentina. Por otra parte, Heppner (2002) menciona la existencia de 10 especies de *Paectes* en EUA: *P. acutangula* Hampson, *P. abrostoloides* (Guenee), *P. acutangula* Hampson, *P. arcigera* (Guenee), *P. burserae* (Dyar), *P. lunodes* (Guenee), *P. nubifera*, *P. obrotunda* (Guenee), *P. oculatrix* (Guenee) y *P. pygmaea* Hubner. Más recientemente, Pogue (2013) menciona dos especies de *Paectes* adicionales para Florida (EUA): *P. asper* y *P. nana*, ambas alimentándose de hojas de *S. terebinthifolius*.



**Figura 10 A-C.** Patrones alares de especímenes adultos de *Paectes obrotunda*.

Además, se obtuvieron parasitoides de distintas familias de Hymenoptera emergiendo tanto de larvas colectadas en la Argentina (*Aleiodes* sp. (Rogadinae, Braconidae), *Meteorus* sp. (Meteorinae: Braconidae) e Ichneumonidae (una especie)) como en Florida (Wheeler inédito). Por

lo tanto, y considerando toda la información disponible de estudios preliminares de especificidad, existencia de especies de *Paectes* en EUA alimentándose de *S. terebinthifolius* y la existencia de parasitoides en el área nativa y exótica, no se desarrollaron estudios adicionales con *Paectes* spp.



**Figura 11 A-C.** Genitales (*aedeagi*) de tres especímenes macho de *Paectes obtotunda*.

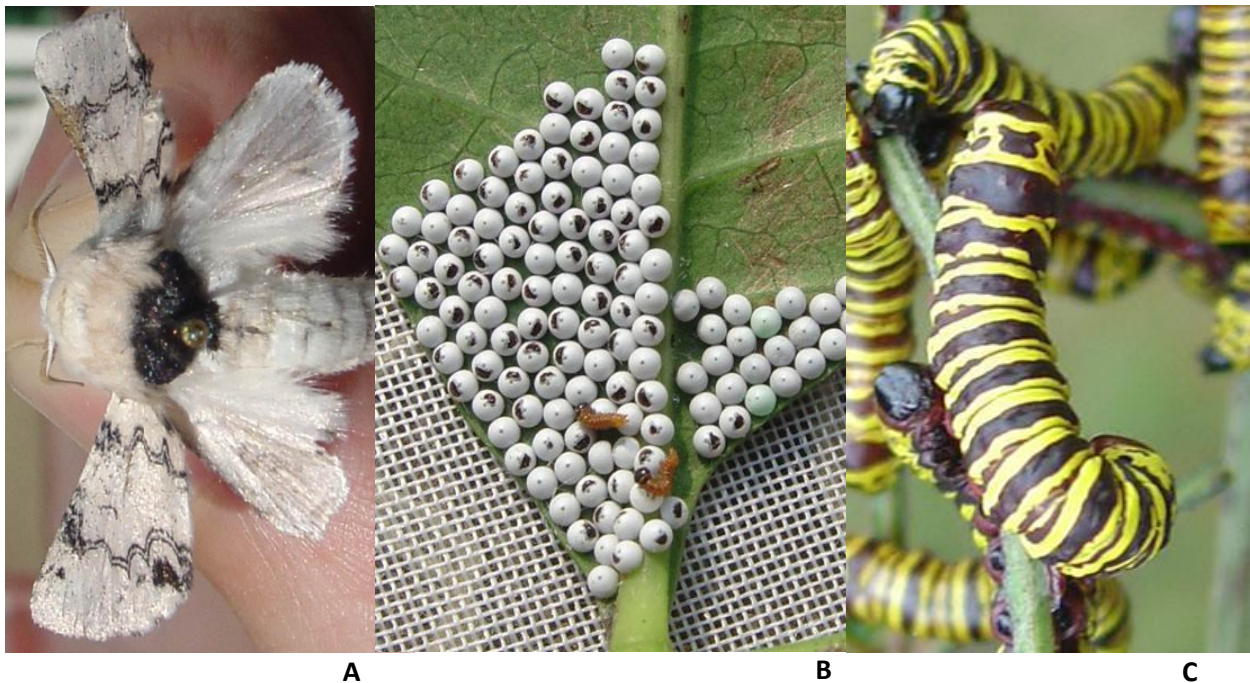
- *Eutelia abscondens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). El hallazgo de esta especie sobre *S. terebinthifolius* constituye un nuevo registro para la Argentina. De amplia distribución en América, *E. abscondens* está presente en Colombia, Costa Rica, Guatemala, Nicaragua, Panamá, Venezuela y Brasil (Martin R. Honey, comunicación personal). Considerando que *S. terebinthifolius* no es nativa en América Central, es esperable que *E. abscondens* utilice otros huéspedes además de *S. terebinthifolius*.

- *Nystalea ebalea* Stoll (Lepidoptera: Notodontidae). Larvas de esta especie se encontraron en forma aislada y en baja densidad alimentándose de las hojas de *S. terebinthifolius*. La existencia de

poblaciones silvestres de *N. ebalea* en Florida (EUA) (Wheeler 2013), descartaron estudios adicionales como un potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius*.

- *Tecmessa elegans* Schaus (Lepidoptera: Notodontidae). Registrada en la Argentina sobre *Lithrea brasiliensis* y *Lithrea* sp. ("aroeira") (D'Araujo *et al.* 1968; Pastrana 2004) y *S. terebinthifolius* y sobre *L. molleoides* en Brasil (Wheeler & Mc Kay inédito), en el presente estudio *T. elegans* se encontró sobre *S. terebinthifolius* en diferentes sitios del noreste de la Argentina (Corrientes y Misiones). Además, se encontraron huevos y larvas de *T. elegans* sobre *S. weinmannifolius*, constituyendo un nuevo registro sobre esta especie en la Argentina.

Los adultos de *T. elegans* (envergadura alar: 3 cm) son de color blanco cremoso, con 3 líneas oscuras sinuosas sobre las alas delanteras (Fig. 12A). Las hembras depositan un número variable



**Figura 12** *Tecmessa elegans*. A- Adulto. B- Huevos. C- Larvas.

(10-80) de huevos en grupos sobre la cara abaxial de los folíolos (Fig. 12B). Posee cinco estadios larvales, siendo los tres primeros gregarios y los dos últimos solitarios. El color de las larvas cambia

progresivamente de morado en los primeros estadios a morado y amarillo dispuestos en anillos alternos a lo largo del cuerpo en los estadios más avanzados (Fig. 12C). Las larvas se alimentan vorazmente de las hojas de *S. terebinthifolius*. Los primeros estadios larvales se alimentan de la epidermis de los folíolos en la cara abaxial. A medida que crecen, las larvas se alimentan de toda la superficie foliar a excepción del raquis. En ocasiones, pequeñas plantas de *S. terebinthifolius* se encontraron totalmente defoliadas por la acción de *T. elegans*. Las larvas maduras abandonan la planta para pupar dentro de un capullo de seda y tierra que construyen unos centímetros por debajo de la superficie en la base de las plantas. Huevos y larvas de *T. elegans* se encontraron en el campo entre los meses de diciembre y abril.

A partir de huevos y larvas de *T. elegans* recolectados en el campo, fue posible identificar cuatro especies de parasitoides, los Hymenoptera: *Anastatus* sp. (Eupelmidae) (de huevos); *Glyptapanteles* sp. (Braconidae), *Diradops* n. sp. (Ichneumonidae) (de larvas), y un Diptera: *Lespesia* sp. (Tachinidae) (de larvas). En algunas muestras, los parasitoides fueron responsables del 90% de la mortalidad de las larvas.

En estudios preliminares de laboratorio, en un diseño sin opción en recipientes plásticos de 500 cm<sup>3</sup>, larvas neonatas de *T. elegans* lograron desarrollarse hasta el estado adulto en *S. terebinthifolius*, 6 especies de Anacardiaceae nativas y dos especies de *Pistacia* (Tabla 4). En condiciones de confinamiento restringido, muchos herbívoros amplían el conjunto de especies que utilizan como huéspedes (Wapshere 1989; Shepherd 1990; Olckers *et al.* 1995). El desarrollo de *T. elegans* sobre distintas especies de Anacardiaceae podría ser un artificio (“resultado falso positivos”), producto de las condiciones experimentales. La probabilidad de obtener resultados falso positivos en pruebas sin opción es alta, por lo tanto, un agente de control potencialmente útil no debería ser rechazado teniendo en cuenta únicamente los resultados obtenidos en estas pruebas (Hill 1999). A pesar de estos resultados, el restringido conjunto de plantas huéspedes de

*T. elegans* reunido a partir de registros bibliográficos y datos de campo recolectados en el presente estudio, motivaron la realización de estudios adicionales de biología y especificidad con esta especie (Oleiro et al. 2011). Los resultados de estos estudios indicaron que, en pruebas de especificidad de laboratorio, *T. elegans* utiliza especies de Anacardiaceae ecológica y económicamente importantes en EUA, descartando así, su utilización como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA (Oleiro et al. 2011).

- *Citheronia laocoon* (Cramer) (Lepidoptera: Saturniidae). Especie polífaga registrada sobre Anacardiaceae, Cucurbitaceae, Euphorbiaceae, Malvaceae y Mirtaceae (Pastrana 2004; Robinson et al. 2010). Por estos motivos, *C. laocoon* no fue tomada en cuenta para estudios adicionales.

- *Protambulyx strigilis* (L.) (Lepidoptera: Sphingidae). Esta especie está registrada como huésped de distintas familias de plantas (polífaga) (Robinson et al. 2010) y habita en EUA sobre *S. terebinthifolius* (Cassani et al. 1989). Por tal motivo, *P. strigilis* no fue tomada en cuenta como potencial agente de control de *S. terebinthifolius*.

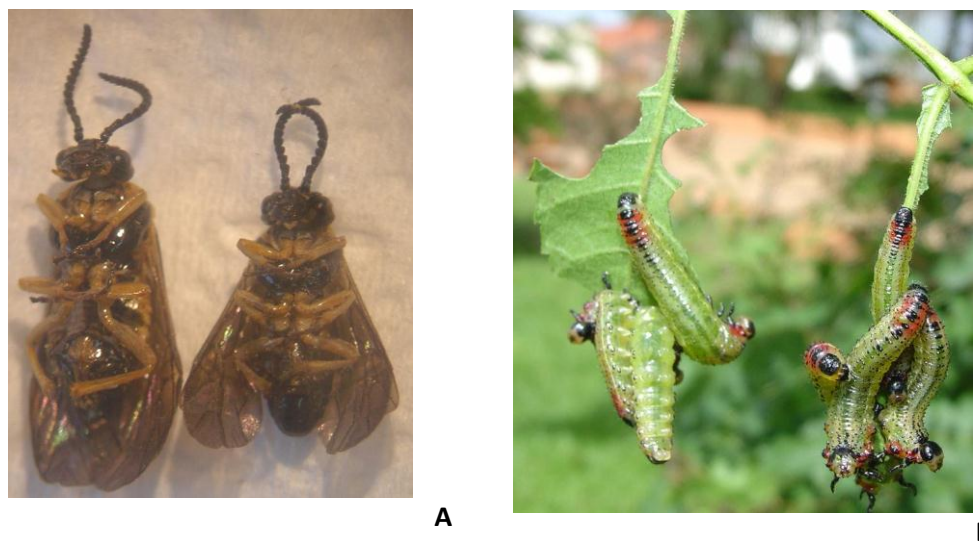
- *Episimus unguiculus* Clarke (Lepidoptera: Tortricidae). Esta especie ha sido introducida en Hawái (Krauss 1963) y estudiada como potencial agente de control de *S. terebinthifolius* en Florida (Martin et al. 2004). En Florida habita otra especie de *Episimus*, *E. transferranus* que se alimenta de las hojas de *S. terebinthifolius* (Heppner 2002; Wheeler comunicación personal). Considerando la información disponible, no se desarrollaron estudios adicionales con esta especie.

- *Contarinia* sp. (Diptera: Cecidomyiidae). Responsable de producir agallas en las hojas de *S. terebinthifolius*, esta especie de *Contarinia* fue identificada como nueva especie (Gagné



comunicación personal). Agallas similares fueron encontradas en *S. molle*. Considerando la baja frecuencia y abundancia y el nivel de daño sobre *S. terebinthifolius*, no se realizaron estudios adicionales con esta especie.

- *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae). Registros previos al presente trabajo daban cuenta de la existencia de *H. hubrichi* en Uruguay sobre *Schinus polygama* (Cav.) Cabrera, y para la Argentina (Entre Ríos y Santa Fe) sin un huésped conocido (Smith 1990) (Fig. 13A). En el presente estudio, *H. hubrichi* se encontró por primera vez sobre *S. terebinthifolius* y *S. weinmannifolius* en numerosos sitios de Entre Ríos, Corrientes y Misiones. Esta avispa sierra, cuyas larvas se alimentan de las hojas de *S. terebinthifolius* (Fig. 13B), tiene dos generaciones por año, encontrándose huevos y larvas en el campo entre abril y junio y luego entre octubre y noviembre.



**Figura 13. *Heteroperreyia hubrichi*. A-** Hembra (izquierda) y macho (derecha) adultos.  
**B-** Larvas.

*Heteroperreyia hubrichi* fue estudiada como potencial agente de control biológico para *S. terebinthifolius* en Hawái pero no fue introducida por representar un riesgo para *Rhus sandwicensis* A. Gray, una especie de Anacardiaceae nativa (Hight *et al.* 2003). Como otras especies de Pergidae, *H. hubrichi* produce péptidos citotóxicos (Oelrichs *et al.* 1999), que provocan

hepato-toxicidad en el ganado (bovino/ovino) conduciendo a necrosis en el hígado (Dutra *et al.* 1997). Si bien *H. hubrichi* resultó ser considerada lo suficientemente específica para ser propuesta como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en Florida (EUA) (Medal *et al.* 1999; Vitorino *et al.* 2000), la presencia de hepatotoxinas (*e.g.* pergidina, lophyrotomina) en larvas de *H. hubrichi* (Dittrich *et al.* 2004), frustró su liberación en EUA, debido al potencial riesgo de intoxicación de fauna salvaje y ganado doméstico al ingerirlas (Cuda *et al.* 2004; 2005; Dittrich *et al.* 2004). Estudios recientes revelaron la presencia de péptidos tóxicos en larvas de *H. hubrichi*, pero a una baja concentración respecto de larvas de otras especies de Pergidae (Boevé *et al.*, 2018). Estos estudios indicaron que el uso de *H. hubrichi* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* presenta riesgos potenciales para la fauna en el área invadida que necesitan ser determinados mediante estudios de toxicología cuantificables con varios modelos de vertebrados. Sin embargo, considerando el restringido número de huéspedes, el nivel de daño, la abundancia y facilidad para criar *H. hubrichi* en el laboratorio, se decidió seleccionar a esta especie para realizar estudios de especificidad con especies de plantas no evaluadas anteriormente y evaluar el potencial de *H. hubrichi* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA (Capítulo 4).

- *Megastigmus transvaalensis* (Hussey) (Hymenoptera: Torymidae). Adultos de *M. transvaalensis* emergieron de frutos de tres especies de *Schinus*: *S. terebinthifolius*, *S. weinmannifolius* y *S. areira*. *Megastigmus transvaalensis* es una especie adventicia en Florida (EUA), que fue introducida accidentalmente desde la Isla Reunión o Mauricio en frutos de *S. terebinthifolius* como pimienta rosa (Habeck *et al.* 1989). *Megastigmus transvaalensis* es responsable del 22,3–38,5% de la destrucción de los frutos de *S. terebinthifolius* en Florida (Wheeler *et al.* 2001). La existencia de

poblaciones de *M. trasvaalensis* en Florida (EUA), descartaron su consideración como un potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius*.

## 2.4 Discusión general

El presente estudio constituye el primer listado de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae en la Argentina, reportando 28 especies adicionales a los listados previos para esta especie en Sudamérica. Estos resultados justifican la decisión de realizar exploraciones para buscar nuevos agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* en nuestro país, un área no explorada anteriormente, y sustentan/corroboran la hipótesis planteada.

El muestreo completo suele no ser una expectativa muy real en los inventarios de biodiversidad y de estudios de artrópodos fitófagos asociados a una planta huésped con potencial como agentes de control biológico. Frecuentemente las curvas de acumulación de especies no alcanzan una asíntota, aun después de muestreos intensivos (Heard & Pettit 2005; Chao *et al.* 2009; Bell *et al.* 2014). Cardoso *et al.* (2009) definen tres categorías en cuanto al nivel alcanzado en la finalización de los muestreos: “razonable” 50 %; “extenso” 70–80 %; y “exhaustivo” 90–100 %. Las inspecciones realizadas sobre *S. terebinthifolius* en el presente estudio resultaron por debajo del 50%, “razonables” o “extensas” según el estimador de la riqueza de especies que se considere. Esto sugiere que en viajes exploratorios adicionales podría registrarse la presencia de especies nuevas, probablemente raras y poco abundantes.

En las inspecciones de enemigos naturales asociados a plantas que se distribuyen en forma continua en grandes extensiones, los potenciales agentes de control biológico suelen ser aquellos con amplia distribución y que son encontrados en etapas tempranas de la exploración (Heard & Pettit 2005). Esto mismo pareciera ser aplicable a *S. terebinthifolius*, el cual se distribuye en forma continua a lo largo de ca. 4600 km desde la Mesopotamia Argentina (Concordia, Entre Ríos S

31.23°) hasta el noreste de Brasil (Natal, Rio Grande do Norte; S 5.79°) (Wheeler inédito). En el presente estudio, las especies seleccionadas para estudios preliminares y para estudios posteriores poseen una amplia distribución en la Argentina y Brasil (Wheeler & Mc Kay inédito) y fueron encontradas durante el primer año de exploraciones. Además, en ese mismo período, se registró la presencia de las especies introducidas para el control biológico de *S. terebinthifolius* en Hawái (*C. infusata*, *E. unguiculus* y *L. atronotatus*) y estudiadas como potenciales agentes de control en Florida (*H. hubrichi*) (Medal *et al.* 1999; Hight *et al.* 2002).

Por otra parte, si bien se ha argumentado que las especies raras ofrecen grandes oportunidades como agentes de control biológico (Myers & Bazely 2003; Kalischuk *et al.* 2004; Muller-Scharer & Schaffner 2008), desde el punto de vista práctico, se requiere de prolongados períodos de exploración y muchas veces, la cría se ve imposibilitada debido a que se recolectan pocos individuos para establecer una colonia en laboratorio.

Entre los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* encontrados en el presente estudio, *L. schinusae* y *H. hubrichi* fueron seleccionados para realizar estudios adicionales para determinar su potencial como agentes de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA.

La aceptación de *P. vera* por parte de *L. schinusae* para alimentarse u oviponer en estudios preliminares genera cierto escepticismo para avanzar en los estudios de especificidad. Sin embargo, en condiciones de confinamiento estricto, tanto en pruebas de especificidad con y sin opción, muchos herbívoros expanden el conjunto de plantas que utilizan como huésped (Shepherd 1990). Por lo tanto, para evaluar el riesgo de *L. schinusae* sobre *Pistacia* spp., se planteó la realización de nuevos estudios de especificidad incluyendo especies de plantas adicionales.

En el caso de *H. hubrichi*, la baja concentración de péptidos tóxicos en larvas de *H. hubrichi* (Boevé *et al.* 2018), renuevan las expectativas sobre el potencial uso de esta especie para el

control de *S. terebinthifolius*. Asimismo, el restringido número de huéspedes naturales, el nivel de daño, la abundancia y facilidad para criar *H. hubrichi* en el laboratorio motivaron la selección de esta especie para realizar estudios adicionales para evaluar su potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolius*.

### 3 Biología y especificidad de *Leurocephala schinusae* Davis & Mc Kay (Lepidoptera: Gracillariidae).

#### 3.1 Introducción

La exploración realizada en la Argentina en busca de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius*, reveló la presencia de un Gracillariidae minador de los folíolos de *S. terebinthifolius*, *L. schinusae*, cuyos caracteres distintivos constituyeron evidencias suficientes para describir un nuevo género y especie de Gracillariidae (Capítulo 2). Los Gracillariidae constituyen la principal familia de Lepidoptera minadores de plantas y la única con un estadio larval que se alimenta de savia vegetal (Davis 1987). Características tales como la posición de reposo de los adultos en un ángulo de 45° y el hecho de que la pupación tenga lugar fuera de la mina, ubican al género *Leurocephala* dentro de la subfamilia Gracillariinae (Davis *et al.* 2011). Un importante carácter diagnóstico entre los Gracillariinae, lo constituye la presencia y el número de ornamentaciones (*frothy globules*) sobre la superficie del capullo que teje la larva para pupar (Nielsen & Common 1991), cuyo número varía entre 1-2 en *Acecrops*; 12-40 en *Dendrorhycter* y más de 100 en *Marmara* (Wagner *et al.* 2000). La presencia de tres formas larvales: un primer estadio larval ápodo que se alimenta de savia; estadios 2°-4° con larvas ápodas que se alimentan de tejidos vegetales; y larva de 5° estadio que se alimenta de tejidos y poseen patas y espuripedios), como las encontradas en *Leurocephala*, ha sido solo encontrada en unos pocos géneros de Gracillariidae (Davis *et al.* 2011). *Leurocephala* difiere de todos los géneros conocidos especialmente por caracteres distintivos de los genitales masculinos (Davis *et al.* 2011). Un análisis molecular de los géneros de Gracillariidae indica que *Leurocephala* se ubica en el grupo *Parectopa* cercano a los géneros *Liocrobyla*, *Micrurapteryx* y *Parectopa* (Kawahara 2010).

En base al restringido número de huéspedes de *L. schinusae*, la abundancia y facilidad para criar esta especie en el laboratorio y la preferencia para oviponer sobre *S. terebinthifolius* en estudios preliminares (Capítulo 2), se estudió la potencialidad de *L. schinusae* como agente de

control de *S. terebinthifolius* en EUA.

Por lo tanto, la pregunta que surge es saber si *L. schinusae* es lo suficientemente específico para ser utilizado como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA. Para ello se plantea la hipótesis de que el conjunto de plantas que un insecto fitófago específico utiliza para su alimentación y oviposición está restringido a un pequeño grupo de plantas filogenéticamente relacionadas. De resultar específico, la utilización de plantas por parte de *L. schinusae* disminuirá progresivamente a medida que aquellas presenten un mayor alejamiento filogenético respecto de su planta huésped, *S. terebinthifolius*.

El objetivo del presente capítulo fue realizar estudios biológicos adicionales (ciclo de vida, presencia de parasitoides y especificidad) de *L. schinusae* con el fin de evaluar su potencial como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA.

## **3.2 Materiales y métodos**

### *3.2.1 Lugar de trabajo y obtención del material*

Se estableció una colonia de *L. schinusae* en la FuEDEI a partir de minas recolectadas en distintas localidades de las provincias de Corrientes y Misiones.

### *3.2.2 Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval*

El tallo de una planta de *S. terebinthifolius* en maceta se introdujo en una manga cilíndrica (20 cm de diámetro por 60 cm de largo) de gasa de poliéster. Dentro de la manga se liberaron adultos (15-20) de *L. schinusae* recién emergidos. Como fuente de alimento se utilizó un algodón embebido en solución azucarada atado con un alambre y colgado desde la parte superior de la manga. La manga se mantuvo en una cámara de cría bajo condiciones ambientales controladas (25±2°C; 60-80% HR; 14:10 L: O). Al cabo de 24 h, los adultos fueron removidos. Para constatar la presencia de huevos

en los folíolos se utilizó una lupa de campo (A=10X). Los folíolos conteniendo huevos se marcaron y se revisaron diariamente para determinar la duración del estado de huevo. A partir de la aparición de minas incipientes, los folíolos fueron revisados cada 48-72h para estimar la duración del estado larval. Los folíolos conteniendo minas maduras, fueron removidos de la planta y conservados en las mismas condiciones ambientales en una caja de Petri con papel húmedo en la base hasta la emergencia de la larva madura. Una vez vacías las minas fueron revisadas para recuperar las cápsulas cefálicas y determinar el número de estadios larvales. Las cápsulas fueron colocadas sobre un portaobjetos con una gota de medio de montaje soluble en agua (*Hoyer*) y un cubreobjetos. El ancho de las cápsulas cefálicas se midió mediante un estéreo-microscopio (Olympus SZ6; A=45X). La morfología del último estadio larval y de los *frothy globules* fue estudiada en un microscopio electrónico de barrido ambiental (MEBA) en el Instituto de Investigaciones Científicas y Técnicas de las Fuerzas Armadas (CITEFA). Los valores de las variables registradas se presentan como la media  $\pm$  la desviación estándar.

*Parasitoides.* La recolección de folíolos de *S. terebinthifolius* con minas de *L. schinusae*, para obtener adultos para la cría y experimentación en el laboratorio permitió identificar la presencia de parasitoides. Los parasitoides emergidos fueron preservados en alcohol y enviados para ser identificados a Daniel Aquino (Museo de la Plata).

### 3.2.3 Pruebas de especificidad

La especificidad de *L. schinusae* se evaluó en laboratorio a través de la realización de pruebas de oviposición y desarrollo larval con y sin opción utilizando tallos cortados y plantas en maceta. Las pruebas de especificidad con tallos cortados tienen la ventaja de que permiten realizar varias réplicas en poco espacio. Si bien en general no hay diferencias sustanciales en los resultados obtenidos en pruebas de especificidad a partir de plantas enteras y hojas/tallos cortadas (Palmer



1999), el material vegetal cortado podría resultar diferente químicamente, nutricional o físicamente del tejido vivo. Por lo tanto, se decidió evaluar la oviposición y el desarrollo hasta el estado adulto en plantas enteras en maceta con algunas especies disponibles. En las pruebas sin opción, el insecto fue expuesto separadamente a cada una de las especies de plantas a ser evaluadas (tratamientos) y los resultados fueron comparados con los obtenidos sobre la especie invasora a controlar (*S. terebinthifolius*, control). La disponibilidad de insectos y plantas permitió ir sumando réplicas de distintas especies en distintos momentos. Así, en cada tanda de réplicas, siempre se realizaban 2-3 réplicas con *S. terebinthifolius* (control) resultando de esta manera al final del estudio con mayor número de réplicas que el resto de las especies evaluadas. En las pruebas con opción, se le ofreció dos o más especies de plantas en presencia de la especie invasora a controlar (*S. terebinthifolius*) (Heard & van Klinken 1998). Estas pruebas tienen las limitaciones y restricciones producto del confinamiento, pero permiten al agente evaluado expresar aspectos del proceso de selección de huéspedes. También se evaluó la especificidad de *L. schinusae* en el campo sobre especies de Anacardiaceae nativas coexistiendo con *S. terebinthifolius*.

La lista de especies de plantas a incluir en los estudios de especificidad se elaboró en base al método centrífugo filogenético (Wapshere 1974), la coexistencia geográfica con *S. terebinthifolius*, importancia económica y disponibilidad. La clasificación de las Anacardiaceae adoptada, reconoce la subfamilia Anacardioideae (tribus: Anacardieae, Dobineae, Rhoeeae y Semecarpeae) y la subfamilia Spondioideae (tribu Spondiadeae) (Pell 2004; Mitchell *et al.* 2006; APG III 2009). En las pruebas se evaluaron 19 especies de Anacardiaceae, además de *S. terebinthifolius*, pertenecientes a las tribus: Anacardieae (*Anacardium occidentale* L. y *Mangifera indica* L.), Rhoeeae (*Astronium balansae*, *Lithrea molleoides* (Vell.) Engl., *Pistacia vera* L., *Pistacia terebinthus* L., *Pistacia integerrima* J.L. Stewart ex Brandis, *Metopium toxiferum* (L.) Krug & Urb., *Rhus aromatica* Aiton, *Rhus glabra* L., *Rhus copallium* L., *Rhus sandwiciensis* A. Gray, *Schinus fasciculatus* (Griseb.) I. M.

Johnst. *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg., *Schinus lentiscifolius* Marchand, *Schinus molle* L., *Schinus weinmannifolius* Engl. y *Toxicodendron radicans*) y Spondiadeae (*Spondias mombin* L.). Las especies de *Pistacia* recibieron especial atención al tratarse de un cultivo de gran importancia en EUA (FAOSTAT 2013). Plantas de *P. vera* y *P. integerrima* y nativas de EUA fueron compradas en viveros. Las plantas de las demás especies se obtuvieron a partir de semillas o a partir de gajos recolectados en el campo.

*Prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas.* Para cada réplica, 20 adultos recién emergidos se colocaron en un recipiente plástico de 3 litros con un agujero en la tapa cubierto con gasa de poliéster para permitir la ventilación (Fig. 14 A). En la base del recipiente se colocó un ramillete de hojas frescas inserto en un recipiente floral (10 cm) con agua (floral Aquapics; Syndicate Sales Inc., Kokomo, IN, USA). En la base del recipiente se colocó papel higiénico húmedo y se colgó de la tapa un algodón embebido en solución azucarada como fuente de alimento. Se realizaron 5-10 repeticiones con las especies no blanco y 15 con *S. terebinthifolius* en condiciones ambientales controladas ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 60-80% HR; 14:10 L:O) (Tabla 6). Las réplicas se dieron por finalizadas al morir todos los adultos (1 semana aproximadamente). Para cada planta, la variable registrada fue el número total de huevos utilizando un estereomicroscopio (Olympus SZ6; A=10X).

*Prueba de oviposición sin opción y desarrollo larval con plantas en maceta.* Para cada réplica, el tallo de una planta en maceta se introdujo en una manga cilíndrica de gasa de poliéster (20 cm de diámetro por 60 cm de largo) (Fig. 14B). Veinte adultos recién emergidos fueron liberados en la manga y confinados hasta su muerte. Un algodón embebido en solución azucarada atado con un alambre y colgado desde la parte superior de la manga se utilizó como fuente de alimento. Se

realizaron 4 réplicas con las especies no blanco y 20 con *S. terebinthifolius* en condiciones ambientales controladas ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 60-80% HR; 14:10 L:O) (Tabla 7). Las réplicas se dieron por finalizadas cuando no quedó ningún adulto vivo dentro de las mangas. Para cada réplica la variable registrada fue el número de minas incipientes y adultos emergidos.

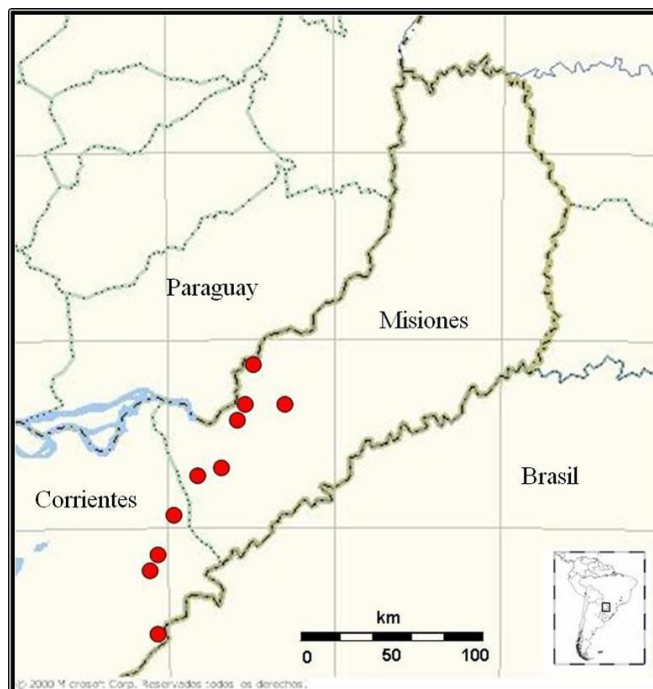


**Figura 14.** A- Recipiente de las pruebas sin opción con tallos cortados. B- Mangas para las pruebas sin opción en maceta.

*Pruebas de oviposición con opción múltiple y desarrollo larval.* En una jaula de  $8\text{ m}^3$  con paredes de tela mosquitera plástica, se colocaron tres plantas en maceta de follaje y altura (1-1,5 m) similares de cada una de las siguientes especies: *M. indica*, *L. molleoides*, *S. lentiscifolius* y *S. terebinthifolius*. La jaula se ubicó en el jardín de la FuEDEI en condiciones naturales de luz, humedad y temperatura durante el mes de Julio. Las plantas se asignaron al azar en posiciones equidistantes en una grilla de 4 columnas y 3 filas. Se liberaron 450 adultos recién emergidos en un lapso de 10 días. La prueba se dio por finalizada cuando no quedó ningún adulto vivo dentro de la jaula. Las variables registradas fueron el número de huevos/minas incipientes y adultos emergidos. La disponibilidad de plantas e insectos permitió la realización de una única réplica.

### 3.2.4 Estacionalidad y especificidad a campo

Se evaluó la especificidad a campo de *L. schinusae* sobre 6 de especies de Anacardiaceae nativas coexistentes con *S. terebinthifolius*. Para ello, se tomaron muestras del follaje de *S. terebinthifolius* y las otras especies de Anacardiaceae (*A. balansae*, *L. molleoides*, *S. lentiscifolius*, *S. longifolius*, *S. molle* y *S. weinmannifolius*) en 10 sitios a lo largo de 150 km en el noreste de la Argentina (provincias de Corrientes y Misiones) en cuatro oportunidades: junio, septiembre y diciembre de 2008 y mayo de 2009 (Fig. 15). En cada sitio, se llenó un balde de 10 litros con el follaje de 10 plantas (distantes 5-10 m entre sí) para cada especie de Anacardiaceae. Las muestras recolectadas en el campo fueron colocadas en bolsas plásticas herméticas en una heladera de viaje con hielo y llevadas al laboratorio. Al cabo de 48 h fueron revisadas mediante un estéreo-microscopio (Olympus SZ6; A=10X) para determinar la presencia de minas activas (con la larva) o vacías para cada especie en cada muestreo.



**Figura 15. Estacionalidad y especificidad a campo.** Sitios de muestreo de follaje de *S. terebinthifolius* y otras 6 especies de Anacardiaceae.

### *Análisis estadístico*

En la prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas, los datos se analizaron mediante un modelo lineal generalizado (MLG) con distribución Poisson como el más adecuado para analizar una variable de respuesta de recuento (*i.e.* número de huevos/minas incipientes). Las distintas especies de Anacardiaceas se consideraron como la variable fija independiente. Las especies de plantas: *L. molleoides*, *P. integerrima* y *M. indica* fueron excluidas del análisis por contar con muy pocas o ninguna respuesta. La variable respuesta número de huevos se modeló mediante la función glm del paquete lme4 del programa estadístico R (versión 3.1.5) con la interfase de RStudio (versión 1.1.453). Cuando surgieron diferencias significativas entre los tratamientos (*i.e.* especies), se realizaron comparaciones de a pares mediante la función emmeans del paquete homónimo corrigiendo el error global (R Development Core Team 2018; RStudio 2018).

En la prueba de oviposición sin opción y desarrollo larval con plantas en maceta, las distintas especies de Anacardiaceas se consideraron como la variable fija independiente. Las variables respuesta número de minas incipientes y número de adultos emergidos se modelaron mediante la función glm del paquete lme4 del programa estadístico R (versión 3.1.5) con la interfase de RStudio (versión 1.1.453). Al analizar los datos mediante un modelo lineal generalizado (MLG) con distribución Poisson, el modelo presentó sobredispersión. Para solucionar dicho problema, las variables respuesta se modelaron con distribución binomial negativa con la función glmmTMB del paquete homónimo. Cuando surgieron diferencias significativas entre los tratamientos (*i.e.* especies), se realizaron comparaciones de a pares mediante la función emmeans corrigiendo el error global (R Development Core Team 2018; RStudio 2018).

### 3.3 Resultados

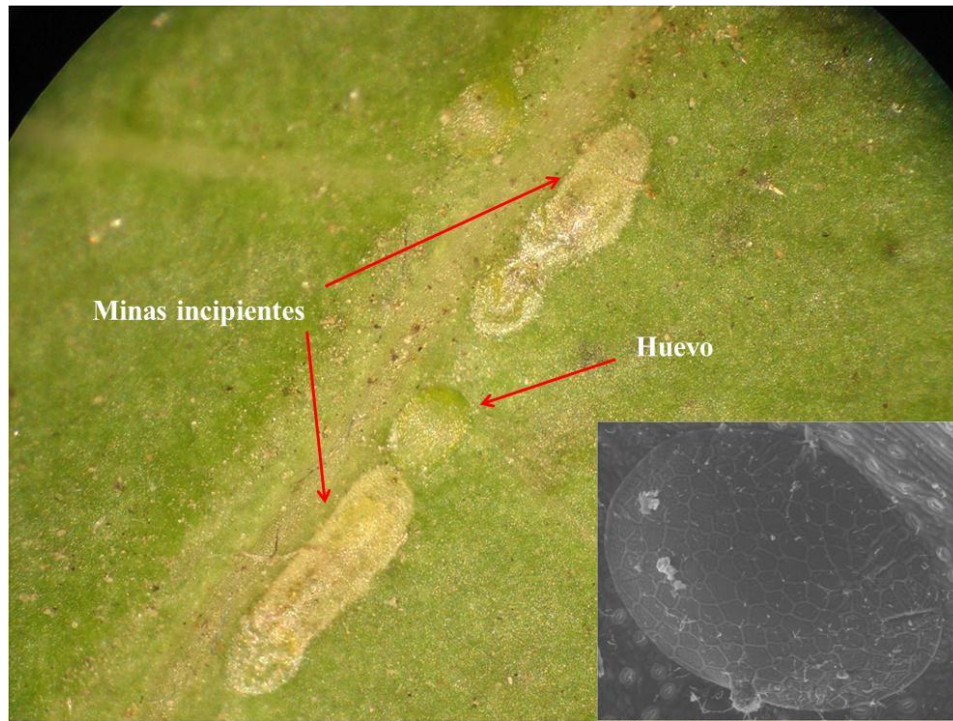
**3.3.1 Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval.** Las hembras de *L. shinusae* depositaron los huevos en forma individual tanto en la nervadura principal como en las nervaduras secundarias de la cara adaxial de los folíolos (Fig. 16A). Los huevos fueron de forma ovoide (largo: 0,40-0,48; ancho: 0,33-0,44 mm), deprimidos con el centro ligeramente elevado y la superficie dorsal de corion reticulada (Fig. 16A). El período de incubación fue de  $5 \pm 0.66$  días ( $n = 10$ ). *Leurocephala schinusae* tiene cinco estadios larvales, los cuales se diferencian en su morfología y comportamiento (Tabla 5). Las larvas de primer estadio (largo: 0,85-1 mm) son ápodas y hacen una mina delgada y corta ( $0,93 \pm 0,08$  mm;  $n = 21$ ), paralela a la nervadura donde ocurrió la oviposición. Al cabo de 3-4 días, la larva muda al estadio 2 y la mina comienza a expandirse en forma gradual para adoptar una forma de ampolla. Si bien el ancho de las cápsulas cefálicas de las larvas de estadio 1 y 2 es igual, la diferencia entre ellas está en el tipo de morfología de las piezas bucales, siendo las de la larva 1 adaptadas para alimentarse de savia y las del estadio 2, masticadoras. Los estadios larvales 2-4, siguen siendo ápodas y pasan a alimentarse de tejidos vegetales, principalmente el mesófilo de los folíolos. A medida que las larvas se desarrollan, la mina se expande gradualmente en forma redondeada (Fig. 16B). Los dos tercios proximales de la mina son de color pardo oscuro y el tercio distal, donde se encuentran las larvas del 5° estadio, es de color verde claro. Una mina desarrollada puede ocupar alrededor de un 40% del tejido fotosintético del folíolo. La larva madura (de 5° estadio) (Fig. 17A) abandona la mina para construir un capullo de seda en la cara adaxial de los folíolos para pupar (Fig. 17B). La duración del estado de larva hasta la formación del capullo fue de  $12 \pm 2$  días ( $n = 19$ ; rango: 11-14). El capullo de forma oval (largo: 6-6,5 mm; ancho: 2,5-3,5 mm) presenta sobre la superficie un número variable  $16 \pm 2,8$  ( $n = 22$ ; rango: 9-20) de ornamentaciones esferoidales blancuzcas brillantes (*frothy globules*) (0,18 mm de diámetro;  $n = 5$ ) dispuestos en una línea media

longitudinal a lo largo del capullo (Fig. 17B). Dentro del capullo, la larva expulsa estas estructuras a través del ano, los recoge con sus patas y hace un orificio en el capullo a través de cual los saca a la superficie. Este proceso insume unos 10 minutos aproximadamente. La presencia de estas ornamentaciones sobre la superficie del capullo constituiría una barrera física contra predadores y parasitoides (Wagner *et al.* 2000). La duración del desarrollo de la pupa dentro del capullo hasta la emergencia del adulto fue de  $9,9 \pm 1$  días ( $n = 19$ ; rango: 9-11).

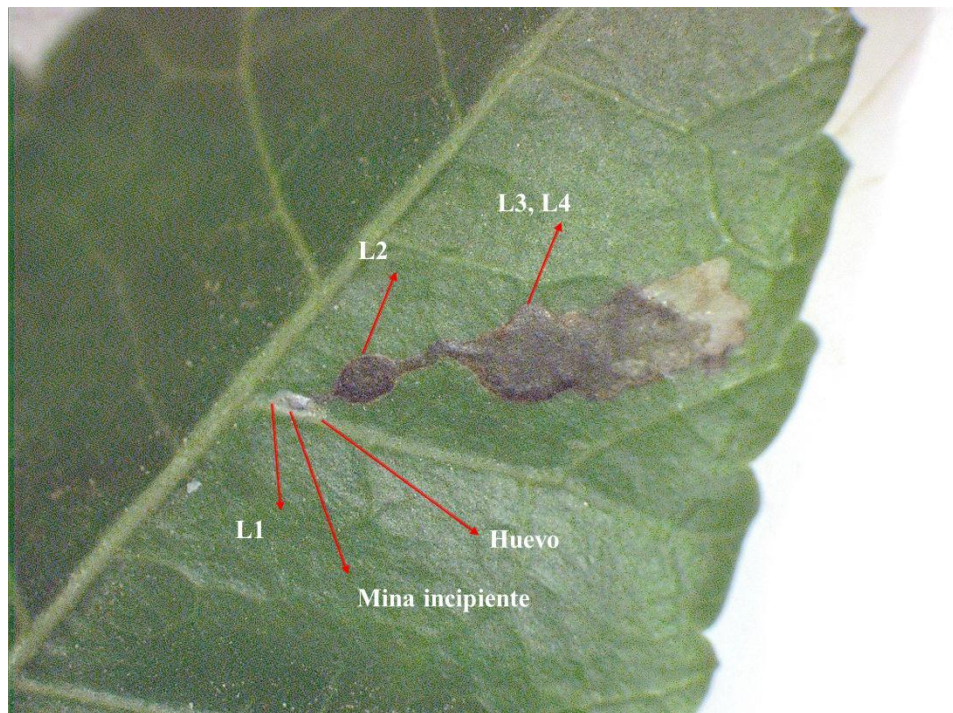
**Tabla 5.** Tamaño de las cápsulas cefálicas de los estadios larvales de *L. schinusae*.

Estado	N	Ancho de las cápsulas cefálicas (mm)	
		Media $\pm$ DS	Rango
L I	10	0,14 $\pm$ 0,01	0,13-0,14
L II	10	0,14 $\pm$ 0,01	0,13-0,14
L III	10	0,21 $\pm$ 0,01	0,20-0,22
L IV	10	0,35 $\pm$ 0,02	0,32-0,39
LV	10	0,43 $\pm$ 0,02	0,40-0,46

*Enemigos naturales.* Tres himenópteros parasitoides emergieron de los capullos de *L. schinusae*: Braconidae (Orgilinae); Ichneumonidae (Brachycyrtinae) y *Isdromas* sp. (Cryptinae: Phygadeuontini).



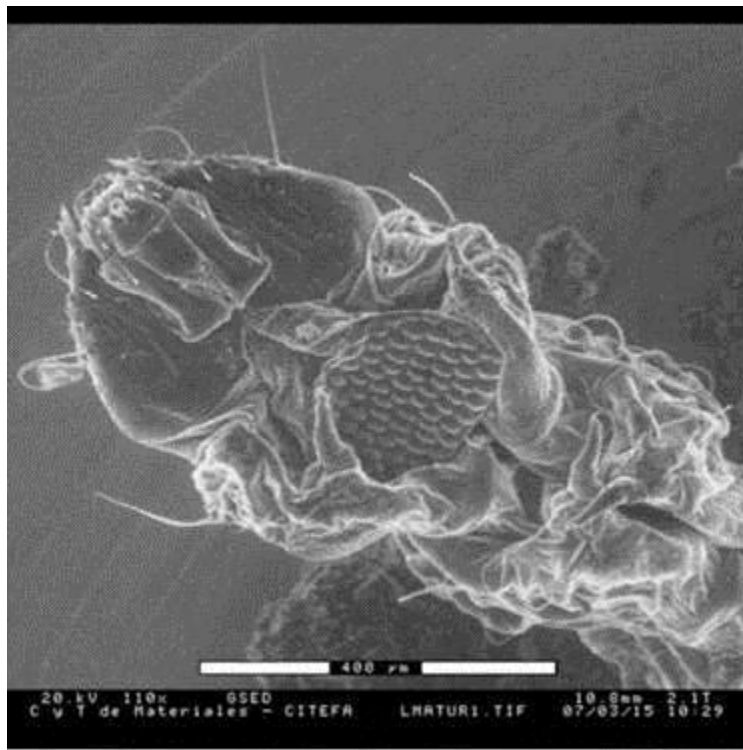
**A**



**B**

**Figura 16 A-B. Huevos y larvas de *L. schinusae*.** A- Minas incipientes, huevo y detalle de huevo en MEBA. B- Mina sobre folíolo de *S. terebinthifolius* y la ubicación de las larvas dentro de la misma.





A



B

**Figura 17 A-B. Larva de *L. schinusae*.** A- Detalle de cabeza en vista ventral de larva madura en MEBA. B- Larva madura dentro del capullo con *frothy globules* y detalle de los mismos en MEBA

### 3.3.3 Pruebas de especificidad

3.3.4 Prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas. *Leurocephala schinusae* aceptó para oviponer a un amplio conjunto de plantas huéspedes (Tabla 6). El modelo de distribución de Poisson fue el que mejor explicó la variable respuesta número de huevos, mostrando diferencias significativas entre las especies de plantas evaluadas ( $\chi^2_5 = 53,46$ ;  $P < 0,0001$ ). Las comparaciones de a pares indicaron que el mayor número de huevos y minas incipientes lo registró *S. fasciculatus* ( $177,6 \pm 45,8$ ), siendo significativamente diferente del resto de las especies de Anacardiaceae evaluadas (Tabla 6). Si bien, el número de huevos y minas incipientes registrado sobre *S. terebinthifolius* ( $40,3 \pm 11,1$ ) fue mayor que en *S. lentiscifolius* ( $11,7 \pm 7,6$ ) y *P. vera* ( $12,8 \pm 6,6$ ), las comparaciones de a pares indicaron que no hubo diferencias significativas entre estas especies (Tabla 6). Si bien *A. balansae* y *S. molle* registraron el menor número de huevos y minas incipientes, las comparaciones de a pares indicaron que no difirieron significativamente del número de huevos y minas incipientes registrados sobre *S. lentiscifolius* y *P. vera* (Tabla 6).

**Tabla 6.** Cantidad de huevos/minas incipientes registrada en la prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas.

Especies de plantas evaluadas	N° de réplicas	Estatus en EUA <sup>1</sup>	N° de huevos o minas incipientes (Media $\pm$ DE) <sup>2</sup>
<i>Astronium balansae</i>	7	Ausente	$4,8 \pm 2,8^c$
<i>Lithrea molleoides</i>	8	I (CA)	0*
<i>Mangifera indica</i>	6	I/C (FL, HI)	$0,2 \pm 0,2^*$
<i>Pistacia integerrima</i>	7	I/C (CA)	0*
<i>Pistacia vera</i>	5	I/C (CA)	$12,8 \pm 6,6^{bc}$
<i>Schinus fasciculatus</i>	5	Ausente	$177,6 \pm 45,8^a$
<i>Schinus lentiscifolius</i>	10	Ausente	$11,7 \pm 7,6^{bc}$
<i>Schinus molle</i>	10	I (AZ; CA; FL; HI; TX)	$8,6 \pm 6,6^c$
<i>Schinus terebinthifolius</i>	15	I (CA, FL, HI, TX)	$40,3 \pm 11,1^b$

<sup>1</sup>: C, Cultivada; I, Introducida. AZ, Arizona; CA, California; FL, Florida; HI, Hawái; TX, Texas (USDA-NRCS 2018). <sup>2</sup> Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

\* *L. molleoides*, *P. integerrima* y *M. indica* fueron excluidas del análisis sin/con muy pocas observaciones.

3.3.5 Prueba de oviposición y desarrollo larval sin opción con plantas en maceta. Al igual que en las pruebas sin elección con tallos cortados, el conjunto de plantas aceptadas por *L. schinusae* para oviposición y desarrollo larval resultó amplio (Tabla 7). El modelo de distribución binomial negativa fue el que mejor explicó la variable respuesta número de minas incipientes en las especies de plantas evaluadas, mostrando diferencias significativas entre las especies de plantas evaluadas ( $\chi^2_7 = 42, 43$ ;  $P < 0,0001$ ). Si bien el conjunto de plantas aceptadas por *L. schinusae* para oviposición y desarrollo de minas incipientes resultó amplio, la emergencia de adultos de *L. schinusae* se registró solo en cuatro especies (Tabla 7). Si bien el número de adultos emergido en *R. aromatica* ( $115,5 \pm 41,3$ ) resultó más del doble y del triple de los adultos emergidos sobre *S. terebinthifolius* ( $52,0 \pm 9,2$ ) y *R. copallinum* ( $31,7 \pm 20,7$ ) y *S. molle* ( $39,0 \pm 11$ ) respectivamente, el modelo de distribución binomial negativa empleado no presentó diferencias significativas en el número de adultos emergidos entre estas especies de plantas ( $\chi^2_3 = 4,11$ ;  $P=0,25$ ). De hecho, el modelo de distribución binomial negativa empleado que contempló la especie de planta como factor fijo, no difirió del modelo nulo ( $\chi^2_3 = 4,35$ ,  $P=0,23$ ), más parsimonioso, por lo que, las especies de plantas, no permiten explicar las diferencias en la emergencia de adultos de *L. schinusae*.

**Tabla 7.** Cantidad de minas incipientes y adultos emergidos en la prueba de oviposición y desarrollo larval sin opción en plantas en maceta.

Plantas evaluadas	N° de réplicas	Estatus en EUA <sup>1</sup>	N° minas incipientes <sup>2</sup> (Media $\pm$ DE)	N° de adultos emergidos <sup>3</sup> (Media $\pm$ DE)
<i>S. terebinthifolius</i>	20	I (CA, FL, HI, TX)	$115,8 \pm 32,2^{ab}$	$52,0 \pm 9,2^a$
<i>S. molle</i>	4	I (CA, FL, HI, TX)	$28,0 \pm 10,0^{bc}$	$39,0 \pm 11^a$
<i>R. aromatica</i>	4	N	$397,7 \pm 156,1^a$	$115,5 \pm 41,3^a$
<i>R. copallinum</i>	4	N	$45,5 \pm 25,7^{abc}$	$31,7 \pm 20,7^a$
<i>R. sandwicensis</i>	4	N (HI)	$7,7 \pm 1,2^c$	0*
<i>R. glabra</i>	4	N	$25,0 \pm ^*$	0*
<i>M. toxiferum</i>	4	N	$31,3 \pm 20,3^{abc}$	0*

<i>T. radicans</i>	4	N	2,0 ± 0*	0*
<i>S. mombin</i>	4	N	0*	0*
<i>P. terebinthus</i>	4	C (CA)	7,5 ± 1,6 <sup>c</sup>	0*
<i>A. occidentale</i>	4	I (PR, IV)	30,7 ± 10 <sup>abc</sup>	0*
<i>M. indica</i>	4	I/C (CA, FL, HI)	10,0 ± 0*	0*

<sup>1</sup>: C, Cultivada; I, Introducida; N, Nativa. CA, California; FL, Florida; HI, Hawái; PR, Puerto Rico; TX, Texas; IV, Islas Vírgenes. \*réplicas omitidas del análisis sin/con muy pocas observaciones. Valores con una letra común no son significativamente diferentes (p<0,05).

3.3.6 *Prueba de oviposición y desarrollo larval con opción múltiple.* Huevos y minas incipientes fueron encontrados sobre las 3 plantas de *S. terebinthifolius* y en 2 plantas de *S. lentiscifolius* (Tabla 8). De los 109 huevos depositados sobre *S. terebinthifolius* y 15 sobre *S. lentiscifolius* emergieron 30 y 12 adultos, respectivamente. No se registraron huevos sobre *L. molleoides* o *M. indica* (Tabla 8).

**Tabla 8.** Cantidad de huevos/minas incipientes y adultos emergidos en la prueba de oviposición y desarrollo larval con opción múltiple

Plantas evaluadas	N° de huevos/ minas incipientes	Adultos emergidos
<i>S. terebinthifolius</i>	109	30
<i>S. lentiscifolius</i>	15	12
<i>L. molleoides</i>	0	--
<i>M. indica</i>	0	--

### 3.3.7 *Estacionalidad y especificidad a campo.*

Si bien se encontraron minas activas y vacías de *L. schinusae* sobre *A. balansae* (6), *S. lentiscifolius* (14), *S. longifolius* (6), *S. weinmannifolius* (26), la mayoría fueron encontradas en *S. terebinthifolius* (899) (Tabla 9). No se encontraron minas de *L. schinusae* en los folíolos de *L. molleoides* o *S. molle* (Tabla 9). Si bien se encontraron durante los cuatro muestreos, el mayor porcentaje de minas activas sobre *S. terebinthifolius* fue encontrado en junio 2008 (62,5%) y septiembre de 2009 (25%) (Tabla 9).

**Tabla 9.** Estacionalidad y especificidad a campo de *L. schinusae*.

Fecha de los muestreos	Especies de plantas	N° total de minas	
		Activas	Vacías
Junio 2008	<i>Astronium balansae</i>	1	1
	<i>Lithrea molleoides</i>	0	0
	<i>Schinus lentiscifolius</i>	0	3
	<i>Schinus longifolius</i>	0	1
	<i>Schinus molle</i>	0	0
	<i>Schinus terebinthifolius</i>	30	121
	<i>S. weinmannifolius</i>	0	2
Septiembre 2008	<i>Astronium balansae</i>	0	2
	<i>Lithrea molleoides</i>	0	0
	<i>Schinus lentiscifolius</i>	0	11
	<i>Schinus longifolius</i>	3	2
	<i>Schinus molle</i>	0	0
	<i>Schinus terebinthifolius</i>	12	658
	<i>S. weinmannifolius</i>	0	22
Diciembre 2008	<i>Astronium balansae</i>	0	0
	<i>Lithrea molleoides</i>	0	0
	<i>Schinus lentiscifolius</i>	0	0
	<i>Schinus longifolius</i>	0	0
	<i>Schinus molle</i>	0	0
	<i>Schinus terebinthifolius</i>	4	53
	<i>S. weinmannifolius</i>	0	2
Mayo 2009	<i>Astronium balansae</i>	1	1
	<i>Lithrea molleoides</i>	0	0
	<i>Schinus lentiscifolius</i>	0	0
	<i>Schinus longifolius</i>	0	0
	<i>Schinus molle</i>	0	0
	<i>Schinus terebinthifolius</i>	2	19
	<i>Schinus weinmannifolius</i>	0	0

### 3.4 Discusión

Las pruebas de especificidad en laboratorio muestran que, de las 18 especies de Anacardiaceae evaluadas, *L. schinusae* aceptó para oviponer 15 de ellas y para completar su desarrollo hasta el estado adulto a 5 especies. Existe un consenso general sobre que el conjunto de huéspedes determinado a partir de pruebas sin opción constituye una sobreestimación del conjunto real de plantas que un agente de control acepta en la naturaleza (Shepherd 1990; Olckers 1995). En las condiciones experimentales de confinamiento de las pruebas sin opción, las primeras etapas comportamentales de búsqueda y reconocimiento de huéspedes son eliminadas. Esto propicia la obtención de resultados falsos positivos, es decir, la utilización de huéspedes por parte del agente evaluado que normalmente no utilizaría en el campo (McFadyen 1998; Hill 1999; Heard 2000). Por este motivo, los resultados obtenidos en las pruebas sin opción son complementados con pruebas con opción múltiple, donde, aun con las restricciones del confinamiento, el agente evaluado expresa aspectos comportamentales de búsqueda de huéspedes (Wapshere 1989; Schaffner 2001). La ausencia de oviposiciones sobre *M. indica* en la prueba con opción múltiple indica entonces que las oviposiciones registradas sobre esta planta en las pruebas sin opción constituyen un resultado falso positivo producto de las condiciones experimentales confinadas. Si bien la especificidad a campo de *L. schinusae* se centró en evaluar especies de Anacardiaceae nativas del noreste de Argentina, hubiera sido interesante revisar hojas de árboles de *M. indica* que habitualmente pueden encontrarse por las rutas y caminos de Corrientes y Misiones para determinar la presencia de minas de *L. schinusae*.

Si bien no hay un orden establecido para realizar las pruebas de especificidad, un orden lógico es realizar primero las pruebas sin opción y luego pruebas con opción con aquellas especies que hayan registrado alguna respuesta por parte del insecto en estudio (*e.g.* oviposiciones, daño de alimentación, etc) en las pruebas sin opción (Heard & van Klinken 1998). El hecho de que las

pruebas de especificidad de laboratorio y campo de *L. leurocephala* se hayan realizado en forma simultánea, derivó en que *L. molleoides*, que no había registrado oviposiciones en la prueba sin opción, haya sido evaluada en la prueba con opción múltiple.

El conjunto de huéspedes determinado en forma experimental resulta, en muchos casos, más amplio que el conjunto de plantas huéspedes que el agente utiliza en la naturaleza (Shepherd 1990; Olckers 1995). Los resultados obtenidos con *S. molle* constituirían un ejemplo de ello, dado que fue una especie aceptada por *L. schinusae* en pruebas de laboratorio y no utilizada en el campo.

En dos especies de *Rhus*, *R. aromatica* y *R. copallium* que no habitan en Sudamérica, pero que coexisten con *S. terebinthifolius* en las áreas invadidas en EUA, *L. schinusae* completó su desarrollo hasta el estado adulto en pruebas sin opción de oviposición y desarrollo larval. Esta “nueva asociación” podría ser también interpretada como un resultado artificial de las condiciones experimentales de confinamiento si en pruebas de especificidad de menor confinamiento se redujera la aceptación de estas especies por parte de *L. schinusae*.

El hecho de que *S. fasciculatus* haya registrado 4 veces más oviposiciones/minas incipientes que *S. terebinthifolius*, merece un comentario. En mayo de 2007 se realizó una recolección de minas en hojas de *S. longifolius* y *S. fasciculatus* en Corrientes y Formosa, respectivamente. En el caso de las minas de *S. longifolius*, los adultos emergidos fueron identificados como *L. schinusae* por Don Davis (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution). En el caso de las minas de *S. fasciculatus*, no fue posible obtener adultos y por ende confirmar la identidad de los especímenes causantes de las minas. Sin embargo, considerando el alto número de oviposiciones/minas incipientes registrado en las pruebas de oviposición sin opción, es muy probable que *S. fasciculatus* sea un huésped natural de *L. schinusae*. Hubiera sido interesante haber podido incluir a *S. fasciculatus* en los muestreos de campo, sin embargo, en el presente

estudio no fue posible encontrar poblaciones de esta especie coexistiendo con *S. terebinthifolius*. Se recomienda realizar inspecciones de campo en el área de distribución de *S. fasciculatus*, principalmente la Región Chaqueña (Muñoz 2000), para estudiar la presencia y abundancia de *L. schinusae*. A su vez, para evaluar la preferencia de *L. schinusae* por *S. fasciculatus* y *S. terebinthifolius*, se sugiere realizar una prueba de oviposición/desarrollo larval incluyendo ambas especies.

La oviposición de *L. schinusae* sobre *P. vera*, aunque baja, resulta importante por la extensa área que tiene este cultivo en EUA. Sin embargo, el riesgo potencial de una planta de ser utilizada por un agente de control biológico no se incrementa únicamente por su cercanía filogenética con la maleza, sino también por cuestiones biogeográficas (Briese & Walker 2002). En este sentido, las plantaciones de pistacho en los Estados Unidos de América, se encuentran en el estado de California bajo condiciones climáticas (veranos secos y calurosos e inviernos fríos) muy distintas a las que predominan (clima tropical-húmedo) en el área de mayor infestación de *S. terebinthifolius* (estado de Florida). Este hecho, sumado a que el tipo de daño producido por *L. schinusae* no esté reportado en plantaciones de pistacho en la Argentina (Margheritis y Rizzo 1965; Rizzo 1977; Justo & Parra 2005; Diario de Cuyo 2005), sugiere que *L. schinusae* no representaría un riesgo para las plantaciones de *Pistacia vera* en EUA. Además, el hecho de que las plantaciones de pistacho se encuentren sometidas a un estricto control químico de insectos plaga haría aún menos probable la presencia de *L. schinusae* en dichas plantaciones.

La información reunida en el presente estudio tiene el carácter de preliminar para establecer el conjunto de plantas huéspedes de *L. schinusae*. La estimación del riesgo de utilizar *L. schinusae* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA debería completarse evaluando la capacidad de este lepidóptero para sostener una población viable sobre las especies en las que se registraron oviposiciones, desarrollo larval y emergencia de adultos, especialmente aquellas



Anacardiaceae nativas de EUA como *Rhus* spp. o de importancia económica como *Pistacia* spp.. Además, sería necesario, con esas mismas especies, realizar pruebas con opción en laboratorio así como pruebas de especificidad a campo, sin las restricciones comportamentales y ecológicas presentes en los estudios de laboratorio.

Sin embargo, la consideración de *L. schinusae* como biocontrolador de *S. terebinthifolius* en EUA y la realización de las pruebas adicionales planteadas en el párrafo anterior están limitadas en la actualidad por la reglamentaciones vigentes en ese país para la introducción de agentes de control biológico. Los entes regulatorios encargados de aprobar dichas introducciones muestran menor disposición a aceptar riesgos (Sheppard *et al.* 2003; Dudley & Bean 2012), basando sus decisiones sobre los resultados de pruebas sin opción, más que sobre las pruebas con opción. En este contexto, *L. schinusae* debe descartarse como agente de control de *S. terebinthifolius* en EUA debido a su capacidad de utilizar especies de Anacardiaceae ecológica y económicamente valiosas en América del Norte e Islas del Caribe.

No obstante, la baja performance de *L. schinusae* sobre *R. sandwicensis* y *M. indica*, especies nativa y cultivada en Hawái, respectivamente, justificaría la realización de estudios adicionales con *L. schinusae* como potencial agente de control de *S. terebinthifolius* en Hawái. Así mismo, *L. schinusae* podría ser considerada como potencial agente de control de *S. terebinthifolius* en Australia, donde habitan pocas especies de Anacardiaceae (Jessup 1985).

## 4 Biología y especificidad de *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae).

### 4.1 Introducción

La búsqueda de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en la Argentina reveló la presencia de la avispa sierra, *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae). La familia Pergidae, la tercera más numerosa de los Hymenoptera Symphyta, contiene 14 subfamilias, 59 géneros y 431 especies, con mayoría de especies Sudamericanas (Schmidt & Smith 2006). La subfamilia Perreyiinae, que habita desde Méjico hasta el norte de la Argentina, comprende 7 géneros, uno de los cuales es *Heteroperreyia* (Schmidt & Smith 2006). El género *Heteroperreyia* posee 8 especies, una de las cuales es *H. hubrichi*, descrita a partir de un ejemplar hembra de Rosario, Santa Fe, Argentina, sin hacer mención a ningún huésped (Malaise 1955).

*Heteroperreyia hubrichi* fue estudiada como potencial agente de control biológico para *S. terebinthifolius* en Hawái pero no fue introducida por representar un riesgo para *Rhus sandwicensis* A. Gray, una especie de Anacardiaceae nativa de Hawái (Hight *et al.* 2003). Un problema adicional con *H. hubrichi* es que como otras especies de Pergidae, produce péptidos citotóxicos (Oelrichs *et al.* 1999), que pueden provocar hepato-toxicidad en el ganado (bovino/ovino) conduciendo a necrosis en el hígado (Dutra *et al.* 1997). Si bien *H. hubrichi* resultó ser lo suficientemente específica para ser propuesta como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en Florida (EUA) (Medal *et al.* 1999; Vitorino *et al.* 2000; Cuda *et al.* 2005), la presencia de hepatotoxinas (*e.g.* pergidina, lophyrotomina) en larvas de *H. hubrichi* (Dittrich *et al.* 2004), imposibilitó su liberación en EUA. La principal causa se debió al riesgo de intoxicación de fauna salvaje y ganado doméstico al ingerir larvas de *H. hubrichi* (Cuda *et al.* 2004; 2005; Dittrich *et al.* 2004). Estudios recientes revelaron la presencia de péptidos tóxicos en larvas de *H. hubrichi*, pero en una más baja concentración en relación a otras especies de Pergidae (Boevé *et al.* 2018).

Estos estudios indicaron que la liberación de *H. hubrichi* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* presenta riesgos potenciales para la fauna en el área invadida que deben ser evaluados y estimados mediante estudios de toxicología cuantificables con varios modelos de vertebrados. Sin embargo, considerando los bajos niveles de péptidos tóxicos en *H. hubrichi*, el restringido número de huéspedes, el nivel de daño, la abundancia y facilidad para criar esta especie en el laboratorio, se decidió seleccionar a esta especie para realizar estudios de especificidad con especies de plantas no evaluadas anteriormente y evaluar el potencial de *H. hubrichi* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA.

Como en el capítulo anterior, para todo agente de control biológico que muestre potencialidad, se evaluó la hipótesis de que el conjunto de plantas que un insecto fitófago específico utiliza (*e.g.* oviposición) está restringido a un grupo de especies filogenéticamente relacionadas. Se espera que, de resultar específica, la oviposición de *H. hubrichi* se restringirá a una o unas pocas especies de plantas filogenéticamente muy cercanas a su planta huésped, *S. terebinthifolius*. En consecuencia, en el presente capítulo se informan los resultados de los estudios biológicos adicionales (ciclo de vida y especificidad) de *H. hubrichi* con el fin de evaluar el potencial de esta especie como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA.

## **4.2 Materiales y métodos**

### *4.2.1 Lugar de trabajo y obtención del material*

Se estableció una colonia de *H. hubrichi* en la FuEDEI a partir de larvas recolectadas en distintas localidades de las provincias de Corrientes y Misiones.

*4.2.2 Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval.* Se determinó el número y duración de los estadios larvales de *H. hubrichi*. Para ello se observó el desarrollo de una cohorte de 25 larvas

desde el momento de la eclosión de los huevos hasta la emergencia de los adultos. Las larvas neonatas se criaron individualmente en recipientes de plástico de 800 cm<sup>3</sup> con papel higiénico húmedo en la base y una hoja de *S. terebinthifolius* inserta en un tubo de plástico (10 cm) lleno de agua con un tapón de goma (*floral Aquapics*; Syndicate Sales Inc., Kokomo, IN, USA). Las réplicas fueron revisadas diariamente y hojas de *S. terebinthifolius* fueron provistas cada 48h. Los recipientes se mantuvieron en cámara de cría bajo condiciones ambientales controladas (25±2°C: 60-80% HR; 14:10 L: O). Cuando las larvas alcanzaron el estadio VI-VII se colocó un poco de turba húmeda en el fondo del recipiente para facilitar la construcción del capullo y la pupación de las larvas. Se determinó el número y duración de los estadios larvales contabilizando y midiendo el ancho de las cápsulas cefálicas mediante un estéreo-microscopio (Olympus SZ6; A=45X). Los valores de las variables registradas se presentan como la media ± la desviación estándar.

*Enemigos naturales.* La recolección de larvas de *H. hubrichi* para cría y experimentación en el laboratorio permitió identificar y determinar la abundancia de parasitoides. Estos estudios se hicieron a partir de recolecciones hechas en 4 viajes realizados entre 2016 y 2017 en los que se visitaron 20 sitios a lo largo en las provincias de Entre Ríos, Corrientes y Misiones durante los meses de mayo y octubre, coincidiendo con la presencia de larvas de *H. hubrichi* en el campo. Los parasitoides emergidos de los cocoones de *H. hubrichi* correspondientes a Diptera, Tachinidae fueron enviados para su identificación a María Cecilia Gramajo (Instituto Lillo, Tucumán) y los Hymenoptera Perilampidae a Javier Torrens (Crilar, La Rioja).

#### 4.2.3 Pruebas de especificidad

La especificidad de *H. hubrichi* se evaluó en laboratorio a través de la realización de pruebas de oviposición sin opción utilizando tallos cortados y plantas en maceta. Las pruebas de especificidad con tallos cortados tienen la ventaja de que permiten realizar varias réplicas en poco espacio. Si

bien en general no hay diferencias sustanciales en los resultados obtenidos en pruebas de especificidad a partir de plantas enteras y hojas/tallos cortadas (Palmer 1999), el material vegetal cortado podría resultar diferente químicamente, nutricional o físicamente del tejido vivo. Por lo tanto, se decidió evaluar la oviposición y el desarrollo hasta el estado adulto en plantas enteras en maceta con algunas especies disponibles. Las réplicas no se hicieron todas al mismo tiempo. La disponibilidad de insectos y plantas permitió ir sumando réplicas de distintas especies en distintos momentos. Así, en cada tanda de réplicas, siempre se realizaban 2-3 réplicas con *S. terebinthifolius* (control) resultando de esta manera al final del estudio con mayor número de réplicas que el resto de las especies evaluadas.

También se evaluó la especificidad de *H. hurbrichi* en el campo respecto de especies de Anacardiaceae nativas coexistiendo con *S. terebinthifolius*. La lista de las especies de plantas a incluir en los estudios de especificidad y la clasificación de las Anacardiaceae adoptada se elaboró en base a los mismos criterios utilizados para *L. schinusae* en el capítulo anterior. En las pruebas se evaluaron ocho especies de Anacardiaceae, además de *S. terebinthifolius*, pertenecientes a las tribus: Anacardieae (*Mangifera indica* L.), Rhoeae (*Astronium balansae* Engl., *Lithrea molleoides* (Vell.) Engl., *Pistacia integerrima* J.L.Stewart ex Brandis, *Schinus molle* L., *Schinus longifolius* (Lindl.) Speg., *Schinus lentiscifolius* Marchand, *Schinus weinmannifolius* Engl.). Se incluyó a *P. integerrima*, usualmente utilizada como pie en los injertos del cultivo de pistacho, como representante del género *Pistacia*, debido a la importancia del cultivo del pistacho en EUA (FAOSTAT 2013) y a la similitud química con *S. terebinthifolius* (Campello & Marsaioli 1975). Las plantas de *P. integerrima* fueron compradas en viveros. Las plantas de las demás especies se obtuvieron a partir de semillas, de pequeñas plantas o gajos recolectados en el campo. En los estudios de especificidad a campo, fue posible incluir a *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) (Tembetari), especie que frecuentemente

crece en coexistencia con *S. terebinthifolius* y pertenece a la familia Rutaceae, cercana a las Anacardiaceae dentro del orden Sapindales (APG III 2009).

*4.2.4 Prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas.* Para cada réplica, una pareja de adultos recién emergidos se colocó en un recipiente plástico de 3 litros transparente con un agujero en la tapa cubierto con gasa de poliéster para permitir la ventilación y papel higiénico humedecido en el fondo del recipiente. Dentro del mismo se colocó una sección de tallo terminal de 15 cm de la especie de planta a evaluar inserto en un recipiente floral (10 cm) con agua (floral Aquapics; Syndicate Sales Inc., Kokomo, IN, USA) (Fig. 18A). Se realizaron 5-17 repeticiones con las especies no blanco y con *S. terebinthifolius* en condiciones ambientales controladas ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ; 60-80% HR; 14:10 L:O). Las réplicas se dieron por finalizadas al morir la hembra (5 días aproximadamente). Se contabilizó el número de huevos colocados sobre los tallos un estéreo-microscopio (Olympus SZ6; A=10X).

Los datos se analizaron mediante un modelo lineal generalizado (MLG). Las distintas especies de Anacardiaceas se consideraron como la variable fija independiente. *Lithrea molleoides* fue excluida del análisis por registrar muy pocas observaciones (1 y 8 huevos en 2 de 10 réplicas). La variable respuesta número de huevos se modeló mediante la función glm del paquete lme4 del programa estadístico R (versión 3.1.5) con la inter-fase de RStudio (versión 1.1.453). Al analizar los datos mediante un modelo lineal generalizado (MLG) de distribución Poisson, el modelo utilizado presentó sobredispersión. Para solucionar dicho problema, se optó por analizar los datos mediante un modelo de distribución QuasiPoisson. Cuando surgieron diferencias significativas entre los tratamientos (*i.e.* especies), se realizaron comparaciones de a pares mediante la función emmeans del paquete homónimo corrigiendo el error global (R Development Core Team 2018; RStudio 2018).

4.2.5 *Prueba de oviposición sin opción con plantas en maceta*. Para cada réplica, se introdujo la porción terminal (30 cm) del tallo de cada especie de planta evaluada en maceta dentro de una manga cilíndrica de gasa de poliéster (20 cm de diámetro por 60 cm de largo) (Fig. 18B). Una pareja de adultos recién emergidos fue liberada en la manga y confinada hasta la muerte de la hembra. Se realizaron 3-8 repeticiones con especies no blanco y con *S. terebinthifolius* en condiciones ambientales naturales del jardín de la FuEDEI. Una vez muerta la hembra, se dio por finalizada la réplica y se revisó el tallo para constatar la presencia de huevos.



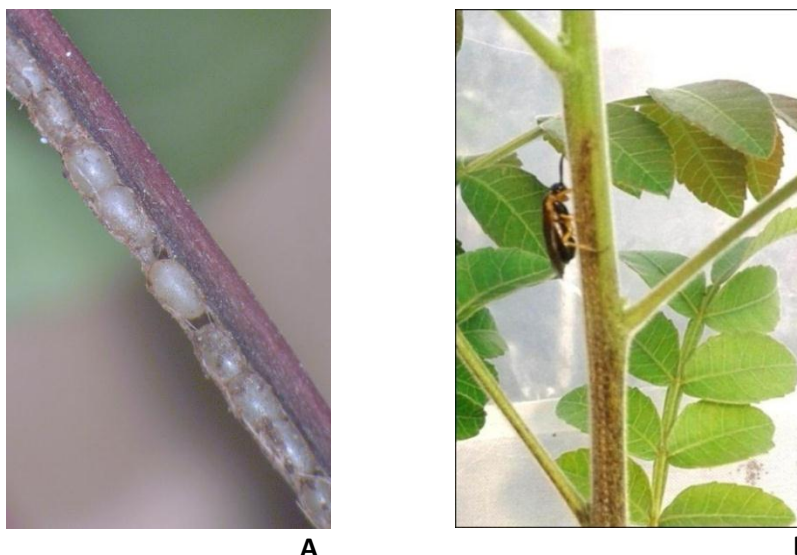
**Figura 18.** A- Recipiente de las pruebas sin opción con tallos cortados. B- Mangas para las pruebas sin opción en maceta.

4.2.6 *Especificidad a campo*. Se evaluó la especificidad a campo de *H. hubrichi* revisando el follaje de plantas de *S. terebinthifolius*, otras especies de Anacardiaceae (*A. balansae*, *L. molleoides*, *S. lentiscifolius*, *S. longifolius*, *S. molle* y *S. weinmannifolius*) y una especie de Rutaceae (*Z. rhoifolium*). Las inspecciones se realizaron en 4 viajes entre 2016 y 2017 visitando 20 sitios en lo largo de las provincias de Entre Ríos, Corrientes y Misiones en distintos viajes durante los meses de mayo y octubre, coincidiendo con la presencia de larvas de *H. hubrichi* en el campo. En cada sitio se registró el número de plantas de cada especie revisadas y el número de larvas de *H. hubrichi*.

### 4.3 Resultados y discusión

#### 4.3.1 Ciclo de vida y parasitoides asociados al estado larval

Las hembras de *H. hubrichi* hacen 1-2 surcos con el ovipositor en la porción terminal de los tallos para colocar 60-150 huevos grisáceos-blanquecinos, ovoides (Fig. 19A). El período de incubación fue aproximadamente de 30 días (Tabla 10). Durante ese período las hembras realizan un cuidado parental de los huevos (Fig. 19B). Las larvas neonatas presentan un color blanquecino y un comportamiento gregario. Se alimentan de la epidermis en la cara abaxial de los folíolos de las hojas terminales. Las larvas de estadios siguientes (II-IV) siguen siendo gregarias y comienzan a alimentarse de los folíolos en forma completa y adoptan una coloración más fuerte, con la mayor parte del cuerpo verde, la porción dorsal y lateral del protórax y mesotórax roja y la porción dorsal de los 3 últimos segmentos del abdomen roja y negra (Fig. 20A). Las larvas maduras de los siguientes estadios (V-VI-VII) se alimentan vorazmente de las hojas (Fig. 209B) y si bien se mantienen agrupadas, están más separadas en la planta. Al ser perturbadas, las larvas adoptan una postura de defensa, arqueando la porción anterior del cuerpo, regurgitando y exponiendo una



**Figura 19.** A- Huevos de *H. hubrichi*. B- Hembra protegiendo la oviposición.



**Tabla 10.** Duración de los estados de vida y ancho de cápsulas cefálicas de *H. hubrichi* estándar.

Estado	N	Duración (días)	Rango	Ancho cápsula cefálica (mm)*
Huevo	100	27,4 ± 4,4	24-35	--
L1	25	4,04 ± 0,2	4-5	0,51 ± 0,02
L2	25	2 ± 0,61	1-4	0,74 ± 0,02
L3	24	2,8 ± 1	2-4	1 ± 0,02
L4	24	3,6 ± 1,12	2-6	1,5 ± 0,02
L5	23	3,3 ± 2,11	2-11	1,74 ± 0,02
L6	23	7,8 ± 3,53	2-14	2 ± 0,02
L7	17	1,7 ± 1,6	1-4	2 ± 0,01
Capullo	4	81,5 ± 8,2	70-88	--

\*: N = 10.

gota de líquido en sus bocas (Fig. 20 A). Analizando las mudas de las larvas maduras, fue posible determinar la presencia de un saco bilobulado en la parte anterior del cuerpo (Fig. 20 B).

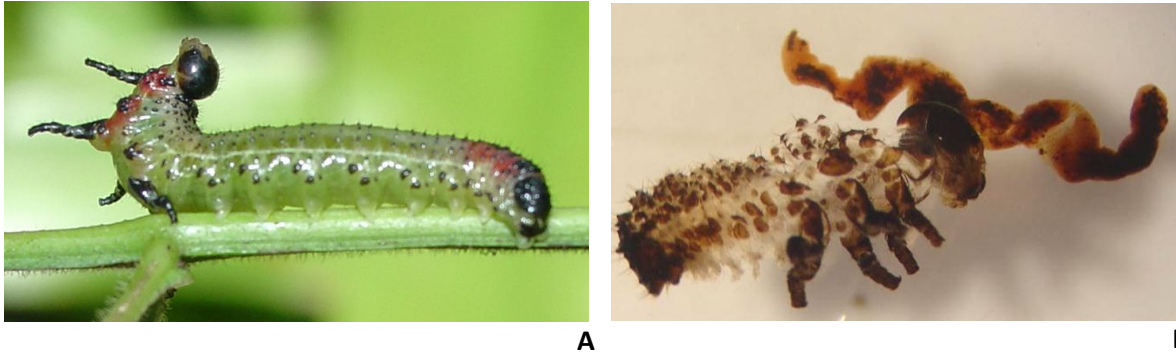


**A**



**B**

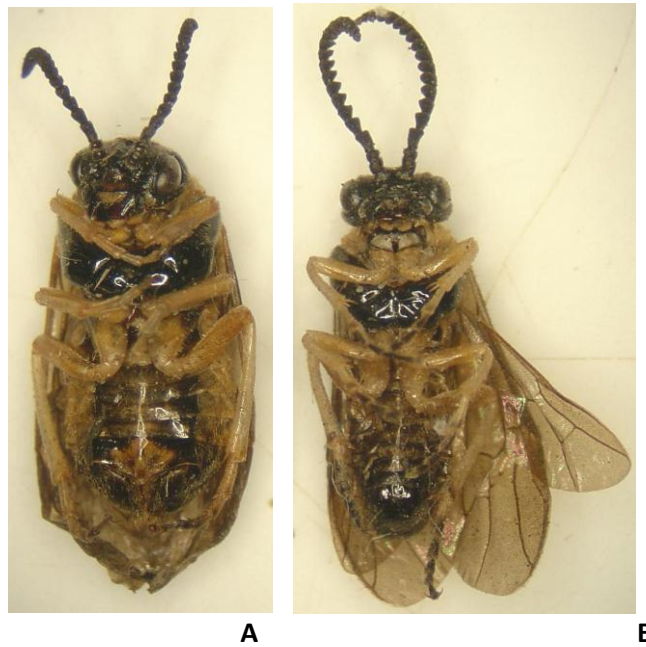
**Figura 20.** A- Larvas de *H. hubrichi* con comportamiento gregario. B- Daño en plantas de *S. terebinthifolius*.



**Figura 21. A-** Larva de *H. hubrichi* en postura de defensa. **B-** Muda y saco bilobulado conteniendo sustancias de defensa.

Las larvas maduras (VI-VII) dejan de alimentarse y descienden de la planta para enterrarse y construir el capullo para pupar. En condiciones de cría de laboratorio, las larvas maduras se enterraron unos 2-3 cm en turba húmeda donde construyeron el capullo y puparon. De las larvas que alcanzaron el estadio VI y luego se enterraron para pupar, emergieron hembras, mientras que de las larvas que alcanzaron el estadio VII, emergieron machos. El tiempo transcurrido desde que la larva VI-VII se enterró en la turba hasta la emergencia del adulto varió entre 70-88 días (Tabla 10). Los distintos estadios larvales pudieron ser distinguidos a partir del ancho de la cápsula cefálica, ya que no existió superposición en el intervalo de valores registrado para cada estadio (Tabla 10). El tiempo transcurrido desde el estado huevo hasta la emergencia de los adultos varió entre 108-171 días.

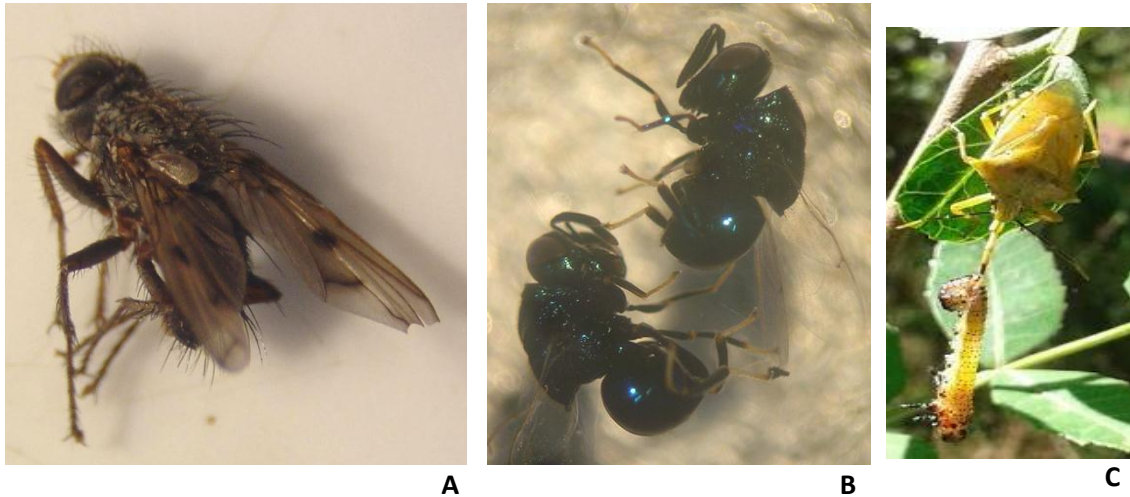
El adulto presenta una coloración general castaña oscura, con patas amarillentas (Fig. 22). La hembra es de mayor tamaño que el macho y presenta valvas de oviposición en la porción terminal del abdomen. Las antenas son levemente pectinadas en los machos y simples en las hembras (Fig. 22).



**Figura 22.** Hembra (izquierda) y macho de *H. hubrichi*.

*Enemigos naturales.* Taquíidos parasitoides emergieron de los capullos de *H. hubrichi* (Fig. 23A). De 1520 larvas de *H. hubrichi* recolectadas emergieron un total de 25 especímenes de una especie de Tachuinidae, dando un parasitismo del 1,6%. En una ocasión se registró la emergencia de parasitoides del género *Perilampus* sp. (Hymenoptera: Perilampidae) (Fig. 23B).

Otro enemigo natural de *H. hubrichi* fue la chinche *Brontocoris tabidus* (Signoret) (Pentatomidae: Asopinae). Hasta 5 adultos y ninfas de esta chinche fueron encontrados ocasionalmente en localidades de Misiones (Garuhapé-Mi y Oberá) predando sobre larvas de estadio IV-V (Fig. 23C). La chinche *B. tabidus* es un predador generalista de larvas de Lepidoptera defoliadoras de *Eucaliptus* sp. en Brasil (De Menezes *et al.* 2013) y de la avispa sierra, *Haplostegus epimelas* Konow (Hymenoptera: Pergidae), que se alimenta de las hojas de *Psidium guajava* (Myrtaceae) (Azevedo Pereira *et al.* 2008). La predación de *B. tabidus* sobre larvas de especies de *H. hubrichi* constituye un nuevo registro.



**Figura 23. Enemigos naturales de *H. hubrichi*. A-** Tachinidae. **B-** *Perilampus* sp. **C-** *Brothcoris tabidus*.

#### 4.3.2 Pruebas de especificidad

#### 4.3.3 Prueba de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas

*Heteroperreya hubrichi* aceptó para oviponer a todas las especies evaluadas (Tabla 11). El modelo de distribución de QuasiPoisson fue el que mejor explicó la variable respuesta número de huevosmostrando diferencias significativas entre las especies de plantas evaluadas ( $X^2_4 = 22,57$ ;  $P < 0,0001$ ). Las comparaciones de a pares indicaron que *S. terebinthifolius* registró el mayor número de huevos, siendo significativamente diferente del número de huevos registrado en *S. molle* y *P. integerrima*, pero no significativamente diferente del número de huevos registrado sobre *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* (Tabla 11). Cabe mencionar que *L. molleoides* registró oviposiciones en solo 2 de las 10 réplicas, con 1 y 8 huevos respectivamente, los cuales fueron depositados en forma anómala sobre el tallo. También se observó que las ovariolas de las hembras utilizadas en las réplicas de *L. molleoides* (y disecadas al morir) estaban llenas de huevos.

**Tabla 11.** Cantidad de huevos registrada en la pruebas de oviposición sin opción con tallos cortados con hojas.

Especies de plantas evaluadas	N° de réplicas	N° de huevos (Media ± DE)
<i>Schinus terebinthifolius</i>	17	103,4 ± 25,4 <sup>a</sup>
<i>Schinus lentiscifolius</i>	5	75,2 ± 66,6 <sup>ab</sup>
<i>Schinus longifolius</i>	5	51,6 ± 48,8 <sup>ab</sup>
<i>Pistacia integerrima</i>	5	31,4 ± 31,1 <sup>b</sup>
<i>Schinus molle</i>	10	31,1 ± 39,6 <sup>b</sup>
<i>Lithrea molleoides</i>	10	0,9 ± 2,5 <sup>*</sup>

Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

\*réplicas omitidas del análisis sin/con muy pocas observaciones.

#### 4.3.4 Prueba de oviposición sin opción con plantas en maceta

En esta prueba, *H. hubrichi* solo ovipuso sobre *S. terebinthifolius* mientras que las especies *P. integerrima* y *M. indica* no registraron oviposiciones en ninguna de las réplicas realizadas (8 y 5 respectivamente) (Tabla 12). Es importante destacar que las ovarias de las hembras utilizadas (y disecadas al morir) en las réplicas de *P. integerrima* y *M. indica* estaban llenas de huevos.

**Tabla 12.** Cantidad de huevos registrada en la pruebas de oviposición sin opción con plantas en maceta.

Especies de plantas evaluadas	N° de réplicas	N° de huevos (Media ± DE)
<i>Schinus terebinthifolius</i>	8	67,5 ± 30
<i>Pistacia integerrima</i>	8	0
<i>Mangifera indica</i>	5	0

#### 4.3.5 Especificidad a campo

En las inspecciones de campo, larvas de *H. hubrichi* fueron encontradas únicamente en *S. terebinthifolius* y *S. weinmannifolius* (Tabla 13). No se registró la presencia de larvas de *H. hubrichi* en *L. molleoides*, *S. lentiscifolius*, *S. longifolius* y *S. molle*, especies que registraron huevos en las pruebas de laboratorio (Tabla 11 y 13). Estos muestreos permitieron registrar la presencia de otra especie del género, *Heteroperreyia jorgenseni* (Jörgensen). Registros previos al presente trabajo, dan cuenta de la existencia de *H. jorgenseni* en Paraguay y la Argentina asociada a *S. molle* (Smith

1990). En el presente estudio, oviposiciones y larvas de *H. jorgenseni* no solo fueron encontradas sobre *S. molle* sino también sobre *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* constituyendo un nuevo registro.

**Tabla 13.** Especificidad a campo de *H. hubrichi*.

Especie de planta	N° de plantas revisadas	N° de larvas <i>H. hubrichi</i> cada 50 plantas	N° de larvas <i>H. jorgenseni</i>
<i>Schinus terebinthifolius</i>	2767	49,1	0
<i>Schinus weinmannifolius</i>	86	22,1	0
<i>Schinus molle</i>	200	0	91,5
<i>Schinus lentiscifolius</i>	86	0	20,3
<i>Schinus longifolius</i>	34	0	3
<i>Astronium balansae</i>	40	0	0
<i>Lithrea molleoides</i>	300	0	0
<i>Zanthoxylum rhoifolium</i>	39	0	0

#### 4.4 Discusión general

Si bien la especificidad de *H. hubrichi* fue estudiada anteriormente cuando fue considerada para utilizarla como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en Florida (EUA) (Medal *et al.* 1999; Vitorino *et al.* 2000; Cuda *et al.* 2005) y en Hawái (EUA) (Hight *et al.* 2003), el presente estudio completó las pruebas de especificidad de *H. hubrichi* en laboratorio y a campo, utilizando especies de Anacardiaceae coexistentes con *S. terebinthifolius* en la Argentina, no evaluadas anteriormente.

En las pruebas sin opción con tallos cortados, *H. hubrichi* aceptó un amplio conjunto de huéspedes, oviponiendo en los tallos de todas las especies evaluadas. A diferencia del trabajo de Hight *et al.* (2003), donde a partir de oviposiciones en tallos cortados en pruebas sin opción pudieron estudiar el desarrollo larval de *H. hubrichi*, esto no fue posible en el presente estudio debido a que los tallos de las plantas se secaron y los huevos de *H. hubrichi* fueron atacados por hongos.

En general no hay diferencias sustanciales en los resultados obtenidos en pruebas de especificidad a partir de plantas enteras y hojas/tallos, aunque es recomendable incluir algunos datos con ambas metodologías para validar los resultados (Palmer 1999). Si bien, *H. hubrichi* aceptó oviponer en *S. terebinthifolius*, tanto en tallos cortados como en plantas en maceta, resulta llamativo el contraste de los resultados obtenidos con *P. integerrima*, especie que *H. hubrichi* solo aceptó en las pruebas con tallos cortados. Además, *H. hubrichi* tampoco ovipuso sobre los tallos de plantas de *M. indica* en maceta. El mismo resultado obtuvieron Hight *et al.* (2003) cuando evaluaron la oviposición de *H. hubrichi* sobre *M. indica* en pruebas sin opción con tallos cortados, donde no obtuvieron oviposiciones en 6 réplicas. Teniendo en cuenta estos resultados y los del presente estudio, no se encontró ninguna evidencia para considerar a *M. indica* un huésped de *H. hubrichi*.

En el campo, *H. hubrichi* mostró una alta especificidad utilizando como huéspedes solamente a *S. terebinthifolius* y en menor medida a *S. weinmannifolius*, especie cercanamente emparentada a *S. terebinthifolius* (Luíza-Silva-Luz *et al.* 2018). La eliminación de las etapas comportamentales de búsqueda y reconocimiento de huéspedes en las pruebas de laboratorio sin opción propicia la aparición de resultados “falso positivos” (McFadyen 1998; Hill 1999; Heard 2000). Así pues, el conjunto de huéspedes determinado en forma experimental, resulta en la mayoría de los casos, más amplio que el conjunto de plantas huéspedes que el agente utiliza en la naturaleza (Shepherd 1990; Olckers 1995). Los resultados de las pruebas de especificidad de *H. hubrichi* en su conjunto, parecen ajustarse a esta generalidad, ya que al disminuir las restricciones de evaluación, disminuyó el número de huéspedes utilizado por *H. hubrichi*. Los resultados obtenidos con *L. molleoides*, *S. molle*, *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* constituyen un ejemplo de ello, dado que fueron especies aceptadas en pruebas de laboratorio pero nunca encontradas utilizándolas en el campo. El hecho de que no haya resultado significativamente diferente el

número de huevos depositado por *H. hubrichi* en pruebas sin opción sobre *S. terebinthifolius*, *S. lentiscifolius* y *S. longifolius*, y que estas dos últimas especies sean huéspedes naturales de *H. jorgenseni* resulta interesante. Para saber si la ausencia de oviposiciones de *H. hubrichi* en los tallos de *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* podría deberse a una competencia con *H. jorgenseni*, sería interesante plantear pruebas de opción pareada entre estas especies y *S. terebinthifolius*. Si en pruebas pareadas *H. hubrichi* sólo utilizara *S. terebinthifolius* para oviponer, teniendo en cuenta los datos de campo, podría interpretarse que *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* no serían huéspedes de *H. hubrichi*. De ser utilizadas *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* en las pruebas pareadas, entonces, la ausencia de huevos de *H. hubrichi* en estas especies en el campo podría interpretarse como el resultado de una competencia entre *H. hubrichi* y *H. jorgenseni* por *S. lentiscifolius* y *S. longifolius* como sustrato para oviponer.

Los estudios de especificidad realizados por Medal *et al.* (1999), Vitorino *et al.* (2000) y Cuda *et al.* (2005) evaluaron principalmente la especificidad de *H. hubrichi* estudiando el desarrollo larval. De las 35 especies ofrecidas (13 Anacardiaceae entre especies nativas y de importancia económica en EUA) en pruebas de desarrollo larval sin opción, *H. hubrichi* se desarrolló hasta el estado adulto exclusivamente en *S. terebinthifolius* y en una ocasión sobre *Anacardium occidentale* L. (castaña de cajú) y *S. molle* (Medal *et al.* 1999). La única hembra de *H. hubrichi* obtenida sobre *A. occidentale* no ovipuso sobre esta especie, pero si lo hizo al ser transferida a una jaula conteniendo una planta de *S. terebinthifolius* (Medal *et al.* 1999). La aceptación de *S. molle* por parte de *H. hubrichi* en una réplica, parece tratarse de un resultado artificial cuando se complementan con los resultados en el campo obtenidos en el presente estudio. Al evaluar el desarrollo larval de *H. hubrichi* en pruebas sin opción con plantas en maceta, Vitorino *et al.* (2000) obtuvieron una mortalidad del 100% de las larvas de *H. hubrichi* al ser evaluadas sobre *M. indica* y *Lithrea brasiliensis* (L.) Marchand.



La información existente sobre la especificidad de *H. hubrichi* reunida en experimentos de laboratorio y campo obtenida en este trabajo y en estudios anteriores (Hight *et al.* 2003; Medal *et al.* 1999; Vitorino *et al.* 2000), no es suficiente para estimar el riesgo de utilizar *H. Hubrichi* como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA. Para ello, es necesario evaluar la especificidad de *H. hubrichi* en especies de Anacardiaceae presentes en EUA nativas (*e.g.* *Metopium toxiferum* (L.) Krug & Urb., *Toxicodendron radicans* (L.) Kuntz, *Rhus aromatica* Aiton, *Rhus glabra* L., *Rhus copallinum* L.) y de Anacardiaceae de importancia económica (*e.g.* *M. indica*, *A. occidentale* L., *P. vera*) en principio realizando pruebas de oviposición y desarrollo larval sin opción en maceta. En el caso que *H. hubrichi* lograra alcanzar el estado adulto en alguna de estas especies, sería necesario evaluar su capacidad para sostener una población viable sobre esas especies al menos 1-3 generaciones. Con aquellas especies sobre las cuales *H. hubrichi* pudiera mantener una población viable en laboratorio, habría que realizar pruebas con opción en laboratorio y a campo sin las restricciones comportamentales y ecológicas presentes en los estudios de laboratorio.

Los programas de control biológico pueden beneficiarse al utilizar agentes que obtienen compuestos de sus huéspedes y los utilizan para defensa y protección contra depredadores generalistas. Este hecho es un fenómeno común en herbívoros específicos (Bowers 1990). Al respecto se ha reportado la obtención y utilización de alcaloides de pirrolizidina por parte de *Tyria jacobaeae* L. de su planta huésped, *Jacobaea vulgaris* Gaertn. (Aplin *et al.*, 1968), de hipericina de bisanthraquinona obtenida por *Chrysolina hyperici* Forster de su planta huésped *Hypericum perforatum* L. (Rees 1969) y los terpenoides obtenidos por *Oxyops vitiosa* Pascoe de su planta huésped *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake (Wheeler *et al.* 2002).

El comportamiento de defensa observado en las larvas de *H. hubrichi* y la presencia de terpenos similares a los de *S. terebinthifolius* presentes en los sacos bilobados de las larvas indican

que este herbívoro específico sería capaz de obtener y utilizar sustancias de defensa de su planta huésped. Una estructura y comportamiento similar ha sido reportada en especies de la subfamilia Perginae que se alimentan de hojas de *Eucalyptus* sp. en Australia (Maxwell 1955; Morrow *et al.* 1976). Estudios de cromatografía revelaron que la composición de la gota de líquido regurgitado contiene los aceites presentes en las hojas de *Eucalyptus* sp., el cual actúa como un potente disuasivo para predadores vertebrados e invertebrados (Morrow *et al.* 1976). Una cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) de la gota regurgitada y del contenido de los sacos de larvas de *H. hubrichi* indicó la presencia de terpenos presentes en su planta huésped, *S. terebinthifolius* (Wheeler comunicación personal).

Si bien esta estrategia de defensa no resulta del todo efectiva para evitar parasitoides (*Perilampus* sp. y Tachinidae) y depredadores (*B. tabidus*), podría ayudar a repeler otro tipo de predadores generalistas. Wheeler *et al.* (2002) experimentaron el efecto repelente de las larvas de *O. vitiosa* sobre hormigas de fuego, *Solenopsis invicta* Buren. Esta hormiga es una de las especies invasoras depredadora más común en el sureste de EUA (Elvin *et al.* 1983; Kharboutli & Mack 1991), responsable de reducir la eficacia de agentes de control biológico (Ciomperlik *et al.* 1992; Knutson *et al.* 2014). Wheeler *et al.* (2002) observaron cómo se reducía la preferencia de *S. invicta* para alimentarse de comida de perro untada con los terpenos presentes en larvas de *O. vitiosa*, obtenidos de su planta huésped *M. quinquenervia*. Frente a la posibilidad de utilizar *H. hubrichi* como agente de control de *S. terebinthifolius* en EUA, la realización de estudios similares para evaluar la naturaleza repelente de los terpenos presentes en larvas de *H. hubrichi* permitiría anticipar el desempeño de *H. hubrichi* frente a invertebrados (*e.g.* *S. invicta*) y vertebrados (*e.g.* pájaros) presentes en el área invadida por *S. terebinthifolius*.

La existencia de péptidos hepatotóxicos en larvas de *H. hubrichi*, aunque en bajas concentraciones, constituye un riesgo potencial de intoxicación para la fauna salvaje y doméstica

en el área invadida por *S. terebinthifolius* y plantea un desafío a la hora de considerar la utilización de *H. hubrichi* como agente de control biológico. Existen registros de intoxicación de ganado vacuno, porcino y ovino en Uruguay y Brasil por ingerir larvas de *Perreyia flavipes* Know y *Perreyia lepida* Brulle (Hymenoptera: Pergidae) (Dutra *et al.* 1997; Raymundo *et al.* 2008). Estas intoxicaciones se producen cuando las larvas de *Perreyia* spp. migran en grandes cantidades a través de las pasturas donde se alimenta el ganado (Dutra *et al.* 1997). A diferencia de las especies de *Perreyia*, las larvas maduras de *H. hubrichi* y *H. jorgenseni*, no realizan migraciones en masa a través de la vegetación, sino que descienden de sus plantas huéspedes y se entierran en el suelo para pupar.

Hasta el momento, no se ha reportado la intoxicación de ganado por ingestión de larvas de *H. hubrichi* o *H. jorgenseni* en su área de distribución nativa en la Argentina, Brasil, Paraguay o Uruguay. Esto no sería por falta de oportunidad, ya que es habitual encontrar larvas de *H. hubrichi* y *H. jorgenseni* alimentándose de sus plantas huéspedes en bordes de campos de pastura, donde podrían ser ingeridas ocasionalmente por el ganado al alimentarse de pasto en la base de las plantas huéspedes de las especies de *Heteroperreyia* (*Schinus* spp.). Al respecto, al consultar oportunamente sobre antecedentes de intoxicación del ganado por ingesta de larvas de *Heteroperreyia* a la Med. Vet. Myriam E. Rojas y al Ing. Agr. Sebastián Felgueras de la Universidad del Salvador en Corrientes, Argentina y al Ing. Franklin Riet del Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Uruguay, tampoco dieron cuenta de antecedentes de intoxicación de animales por especies de *Heteroperreyia*.

Un caso semejante al de *Heteroperreyia* es el de *Cibdela janthina* Klug, una especie potencialmente tóxica de Tenthredinidae (Hymenoptera) nativa de Sumatra, introducida en 2008 en la Isla Reunión para el control biológico de *Rubus alceifolius* Poir (Rosaceae) sin haberse

reportado hasta el momento daños no deseados en la fauna local (Le Bourgeois *et al.* 2011; Mathieu *et al.* 2014; Florens *et al.* 2017).

Los antecedentes mencionados en los párrafos anteriores resultan alentadores para seguir considerando a *H. hubrichi* como un potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius*. En caso de que los estudios de especificidad indiquen que *H. hubrichi* es lo suficientemente específica para ser utilizada como agente de control biológico de *S. terebinthifolius* en EUA, deberán realizarse entonces los estudios de toxicidad utilizando diversos modelos de vertebrados.

## 5 Conclusiones

El objetivo general de esta tesis fue la búsqueda de los artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* en la Argentina y la selección de aquellos con mayor potencialidad como agentes de control biológico de esta especie en EUA.

Los resultados alcanzados en este estudio demostraron la existencia de artrópodos fitófagos asociados a *S. terebinthifolius*, su planta huésped, en su área de distribución nativa en la Argentina. Se encontraron 28 especies de fitófagos asociados a *S. terebinthifolius* y otras Anacardiaceae, previamente no reportados para Sudamérica.

La valoración integrada de aspectos tales como el conjunto de plantas huéspedes conocidas a partir de registros bibliográficos, la frecuencia y abundancia en el campo, la facilidad de establecer una cría del agente en el laboratorio, el nivel de daño y la especificidad en el campo, permitió seleccionar a dos insectos que mostraron alta potencialidad como agentes de CB, la polilla minadora *Leurocephala schinusae* y la avispa sierra *Heteroperreyia hubrichi* para realizar estudios adicionales de su biología y especificidad.

Los resultados de las pruebas de especificidad de *L. schinusae* no resultaron concluyentes para estimar el conjunto de sus plantas huéspedes. Sin embargo, el hecho de que *L. schinusae* haya utilizado en las pruebas de laboratorio un amplio conjunto de especies de Anacardiaceae ecológica y económicamente valiosas en América del Norte e Islas del Caribe, descartó su consideración como agente de control de *S. terebinthifolius* en EUA y la realización de pruebas adicionales.

Los estudios de especificidad de *H. hubrichi* en laboratorio y campo sobre especies de Anacardiaceae coexistentes con *S. terebinthifolius* en la Argentina, no evaluadas en estudios previos realizados en Hawái y Florida, aportaron información novedosa sobre su especificidad.

Si bien *H. hubrichi* utilizó un amplio conjunto de huéspedes en las pruebas de laboratorio, en el campo mostró una alta especificidad utilizando como huésped principalmente a *S. terebinthifolius*.

La especificidad encontrada y el comportamiento de defensa observado en las larvas de *H. hubrichi* permiten seguir considerando a esta especie como un potencial agente de control biológico de *S. terebinthifolius*. Para ello es necesario evaluar la oviposición, el desarrollo larval y la capacidad de sostener una población viable de *H. hubrichi* en especies de Anacardiaceae presentes en EUA tanto nativas como de importancia económica.

Sin embargo, la existencia de péptidos hepatotóxicos en larvas de *H. hubrichi*, aunque en bajas concentraciones, constituye un riesgo potencial de intoxicación para la fauna salvaje y doméstica en el área invadida por *S. terebinthifolius* y plantea un desafío a la hora de considerar la utilización de *H. hubrichi* como agente de control biológico. El riesgo potencial de *H. hubrichi* para la fauna en el área invadida por *S. terebinthifolius* deberá ser evaluado y estimado mediante estudios de toxicología cuantificables con varios modelos de vertebrados.

## Bibliografia

- APG III. 2009. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot. J. Linn. Soc.* 161: 105-121.
- APLIN R.T., BENN M.H., & ROTHSCHILD M. 1968. Poisonous alkaloids in the body tissues of the Cinnabar Moth (*Callimorpha jacobaeae* L.). *Nature* 219: 747-748.
- AZEVEDO PEREIRA A.I., DA SILVA CURVÊLO C.R., PASTORI P.L., SMITH D.R., & COLA ZANUNCIO J. 2008. Comportamento defensivo das larvas do symphyta neotropical *Haplostegus nigriscrus* (Hymenoptera: Pergidae) expostas aos percevejos predadores *Podisus nigrispinus*, *Supputius cincticeps* e *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Revista Caatinga* 21: 167-171.
- BALCIUNAS J.K., BURROWS D.W., & PURCEL M.F. 1996. Comparison of the physiological and realized host-ranges of a biological control agent from Australia for the control of aquatic weed, *Hydrilla verticillata*. *Biological Control* 7: 148-158.
- BARKLEY F.A. 1957. A study of *Schinus* L. *Lilloa* 28: 5-110.
- BELL K.L., HEARD T.A., MANION G., FERRIER S., & VAN KLINKEN R.D. 2014. Characterising the phytophagous arthropod fauna of a single host plant species: assessing survey completeness at continental and local scales. *Biodiversity Conservation* 23: 2985-3003.
- BENNETT F.D., CRESTANA L., HABECK D.H., & BERTI-FILHO E. 1990. Brazilian peppertree - prospects for biological control, pp. 293-297 En E. S. Delfosse (ed.), *Proceedings VII International Symposium on Biological Control of Weeds*, 6-11. March 1988, Rome, Italy. Instituto Sperimentale per la Patologia Vegetale Ministero dell' Agricoltura e delle Foreste, Rome/CSRIO, Melbourne, Australia. 701 pp.
- BENNETT F.D., & HABECK D.H. 1991 Brazilian peppertree - Prospectives for biological control in Florida, pp. 23-33 En T. D. Center, R. F. Doren, R. L. Hofstetter, R. L. Myers, and L. D.

- Whiteaker (eds.), *Proceedings of the Symposium on Exotic Pest Plants*, 2-4. November 1988, Miami, FL. U. S. Dept. Interior, National Park Service, Washington, DC. 387 pp.
- BOEVÉ J.L., ROZENBERG R., MC KAY F., & WHEELER G.S. 2018. Toxic Peptides in Populations of Two Pergid Sawflies, Potential Biocontrol Agents of Brazilian Peppertree. *Journal of Chemical Ecology*, <https://doi.org/10.1007/s10886-018-1021-6>.
- BOWERS M.D. 1990. Recycling plant natural products for insect defense, pp. 353–386, in D. L. Evans and J. O. Schmidt (eds.). *Insect Defenses: Adaptive Mechanisms and Strategies of Prey and Predators*. State University of New York Press, Albany, New York.
- BRIESE D.T. 2003. The centrifugal phylogenetic method used to select plants for host-specificity testing of weed biological control agents: Can and should it be modernised? Pp. 23-33. En: Spafford, H y Briese, D. T. (eds). *Proceedings of the CRC for Australian Weed Management. Biological Control of Weeds Symposium and Workshop*. Perth, Australia, 2002.
- BRIESE D.T., & WALKER A., 2002. A new perspective on the selection of test plants for evaluating the host-specificity of weed biological control agents: the case of *Deuterocampta quadrijuga*, a potential insect control agent of *Heliotropium amplexicaule*. *Biological Control* 25: 273-287.
- 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: 57-155.
- CABI. 2018. Centre for Agriculture and Biosciences International-*Schinus terebinthifolia* [original text by J. Rojas-Sandoval & P. Acevedo-Rodriguez]. En: *Invasive species compendium*. Wallingford: CAB International. Retrieved from <http://www.cabi.org/isc/datasheet/49031>
- CABRERA N. 2004. Chrysomelidae: Alticinae, Chrysomelinae, Eumolpinae, Galerucinae. En: Cordo, H. A.; Logarzo, G.; Braun, K. & O. Di Iorio (eds.), *Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina*



- y sus Plantas Asociadas, Sociedad Entomológica Argentina ediciones, Buenos Aires, pp 80-84, 101-103, 108-115.
- CABRERA N., & ROCCA M. 2012 First records of Chrysomelidae (Insecta, Coleoptera) on blueberries in Argentina: new associations between native chrysomelids and an exotic crop. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 71: 45-55.
- CABRERA WALSH G., BRIANO J.A., ENRIQUE DE BRIANO A., & ANDERSON F.E. 2014. Capítulo XXIX. Control Biológico de Malezas. In Fernández O.A., Leguizamón E.S. and Acciaresi H.A. (Eds.). Malezas e invasoras de la Argentina: Tomo I, Ecología y manejo. Editorial de la Universidad Nacional del Sur. Ediuns. Bahía Blanca, Argentina. pp. 801-821.
- CAMPELLO J.D., & MARSALOLI A.J. 1975. Terebenthifolic acid and bauerenone: new terpenoids ketones from *Schinus terebinthifolius*. *Phytochemistry* 14: 2300-2302.
- CARDOSO P., HENRIQUES S.S., GASPAR C., CRESPO L.C., CARVALHO R., SCHMIDT J.B., SOUSA P., & SZÚTS T. 2009. Species richness and composition assessment of spiders in a Mediterranean scrubland. *Journal of Insect Conservation* 13: 45-55.
- CASSANI J.R., MALONEY D. R., HABECK D. H., & BENNETT F.D. 1989. New insect records on Brazilian peppertree *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), in south Florida. *Florida Entomologist* 72: 714-716.
- CHAO A. 1987. Estimating the population size for capture-recapture data with unequal catchability. *Biometrics* 43:783–791.
- CHAO A., COLWELL R.K., LIN C.W., & GOTELLI N.J. 2009. Sufficient sampling for asymptotic minimum species richness estimators. *Ecology* 90: 1125-1133.
- 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: 137-147.
- CIOMPERLIK, M. A., CHANDLER, J. M., AND DELOACH, C. J. 1992. Predation by red imported fire ant on *Tyta luctuosa* released for control of field bindweed. *Southwestern Entomologist* 17: 267-269.
- COLWELL R.K. 2013. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples, 9 edn. Department of Ecology & Evolutionary Biology, University of Connecticut, Storrs, CT, USA
- CORDO H.A., & DELOACH C.J. 1987. Insects that attack mesquite (*Prosopis* spp.) in Argentina and Paraguay: their possible use for biological control in the United States. United State Department of Agriculture, ARS-62. South American Biological Control Laboratory, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina.
- CORLEY M.F., MARABUTO V.E., & PIRES P. 2007. New Lepidoptera for the fauna of Portugal (Insecta: Lepidoptera). *Revista de Lepidopterologia* 35: 321-334.
- CUDA J.P., HABECK D.H., HIGHT S.D., MEDAL J.C., & PEDROSA-MACEDO J.H. 2004. Brazilian Peppertree. Biological Control of Invasive Plants in the United States (ed. Combs, E.M., Clark, J.K., Piper, G.L., & Cofrancesco jr, A.F.), pp. 439-431. Oregon State University Press, Corvallis.
- CUDA J.P., MEDAL J.C., VITORINO M.D., & HABECK D.H. 2005. Supplementary host specificity testing of the sawfly *Heteroperreyia hubrichi*, a candidate for classical biological control of Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius*, in the USA. *BioControl* 50: 195-201.
- CUDA J.P., FERRITIER A.P., MANRIQUE V., & MEDAL J.C. 2006. Florida's Brazilian Peppertree Management Plan, 2nd edition: Recommendations from the Brazilian Peppertree Task Force, Florida Exotic Pest Plant Council, April 2006. Disponible en: <http://ipm.ifas.ufl.edu/reports/BPmanagPlan.pdf>.

- CUDA J.P., CHRIST L.R., MANRIQUE V., OVERHOLT W.A., WHEELER G.S., & WILLIAMS D.A. 2012. Role of molecular genetics in identifying 'fine tuned' natural enemies of the invasive Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius*: a review. *BioControl* 57: 227-232.
- CUDA J.P., GILLMORE J.L., MEDAL J. C., GARCETE-BARRETT B., & OVERHOLT W.A. 2013. Biology and Fundamental Host Range of the Stem Boring Weevil *Apocnemidophorus pipitzi* (Coleoptera: Curculionidae), a Candidate Biological Control Agent for Brazilian Peppertree. *En*: Y. Wu, T. Johnson, S. Sing, S. Raghu, G. Wheeler, P. Pratt, K. Warner, T. Center, J. Goolsby & R. Reardon (Eds.). *XIII International Symposium on Biological Control of Weeds*, September 11-16, 2011, Waikoloa, Hawaii, USA.
- CUDA J.P., GILLMORE J.L., MITCHELL A.O., BRICKER J., WATSON R.A., GARCETE-BARRETT B.R., & MUKHERJEE A. 2016. Laboratory biology and impact of a stem-boring weevil *Apocnemidophorus pipitzi* (Coleoptera: Curculionidae) on *Schinus terebinthifolia*. *Biocontrol science and technology* 26: 1249-1266.
- D'ARAÚJO E SILVA A.G., GONÇALVES C.R., GALVÃO D.M., GONÇALVES A.J.L., GOMES J., SILVA M.N., & DE SIMONI L. 1968. Quarto catálogo dos insetos que vivem nas plantas do Brasil. Seus parasitos e predadores. Parte II, 1. Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro. 622 pp.
- DAVIS C.J., & KRAUSS N.L. 1962. Recent introductions for biological control in Hawaii - VII. *Proceedings of Hawaiian Entomology Society* 18: 125-129.
- DAVIS R.D. 1987. Gracillariidae (Tinoidea), pp. 372-378 *En* F. W. Stehr (ed.), *Immature insects*. V. 1, Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, IA. 754 pp.
- DAVIS D.R., MC KAY F., OLEIRO M., VITORINO M.D., & WHEELER G.S. 2011. Biology and systematics of the leafmining Gracillariidae of Brazilian Pepper Tree, *Schinus terebinthifolius* Raddi, with descriptions of a new genus and four new species. *Journal of the Lepidoptera Society* 65: 61-93.

- DAVIS D.R., & WAGNER D.L. 2002. Biology and Systematics of the Neotropical Leafminer Genus *Eucosmophora* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Tropical Lepidoptera* 13: 1-40.
- DEBACH P. 1964. El alcance del control biológico. Pp. 31-46. En: De Bach, P. ed. Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. CECSA. México. 929 pp.
- DE MENEZES C.W.G., SOARES M.A., DE ASSIS S.L., DE MENEZES S.J.M.C., DOS SANTOS J.B., & ZANUNCIO J.C. 2013. *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) preying on *Podalia walkeri* (Lepidoptera: Megalopygidae) on eucalypt plants in Brazil. *Florida Entomologist* 96: 261-263.
- DE SOUSA-LOPES B., BÄCHTOLD A., & DEL-CLARO K. 2016. Biology, natural history and temporal fluctuation of the geometrid *Oospila pallidaria* associated with host plant phenology. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 51: 135-143.
- DIARIO DE CUYO. 2005. El oro verde atrae La atención: San Juan comercializa 120 toneladas de Pistacho. Verde. ([http://www.diariodecuyo.com.ar/home/new\\_noticia.php?noticia\\_id=110126](http://www.diariodecuyo.com.ar/home/new_noticia.php?noticia_id=110126)).
- DI IORIO O. 2004. Cerambycinae. pp 17-52. En: Cordo H.A., Lograzo G., Braun K., & Di Iorio O. (Dir.). Catálogo de insectos fitófagos de la Argentina y sus plantas asociadas. SEA Ediciones. Buenos Aires. Argentina. 734 pp.
- DITTRICH R.L., MACEDO J.H.P., CUDA J., & BIONDO A.W. 2004. Brazilian peppertree Larvae Toxicity in Bovines. *Veterinary Clinical Pathology* 33: 191-553.
- DOREN R.F., WHITEAKER L.D., MOLNAR G., & SYLVIA D. 1990. Restoration of former wetlands within the Hole-in-the-Doughnut in Everglades National Park, pp. 33-50. Em: F.J. Webb, Jr. (ed.), *Proceedings of the 7th Annual Conference on Wetlands Restoration and Creation*. Hillsborough Community College, Institute of Florida Studies, Tampa, Florida.

- DONNELLY M.J., GREEN D.M., & WALTERS L.J. 2008. Allelopathic effects of fruits of the brazilian pepper *Schinus terebinthifolius* on growth, leaf production and biomass of seedlings of the red mangrove rhizophora mangle and the black mangrove *Avicennia germinans*. *J. Exp. Marine Biology and Ecology* 357: 149-156.
- DUDLEY T., & BEAN D. 2012. Tamarisk biocontrol, endangered species risk and resolution of conflict through riparian restoration. *BioControl* 57: 331-347.
- DUTRA F., RIET-CORREA F., MENDEZ M.C., PAIVA N. 1997. Poisoning of cattle and sheep in Uruguay by sawfy (*Perreyia favipes*) larvae. *Veterinary and Human Toxicology* 39: 281-286.
- EHRlich P.R., & RAVEN P.H. 1964. Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution* 18: 586-608.
- ELLIS W.E. 2013. Leafminers and plant galls of Europe ([http://en.wikipedia.org/wiki/Simplimorpha\\_promissa](http://en.wikipedia.org/wiki/Simplimorpha_promissa)).
- ELVIN M.K., STIMAC J.L., & WHITCOMB W.H. 1983. Estimating rates of arthropod predation on velvetbean caterpillar larvae in soybeans. *Florida Entomologist* 66: 319-330.
- EWE S.M.L., & STERNBERG S.L. 2002. Seasonal water-use by the invasive exotic, *Schinus terebinthifolius* in native and disturbed communities. *Oecology* 133: 441-448.
- EWE, S.M.L., & STERNBERG S.L. 2003. Seasonal gas exchange characteristics of *Schinus terebinthifolius* in a native and disturbed upland community in Everglades National Park, Florida. *Forest ecology and management* 179: 27-36.
- EWEL J.J. 1979. Ecology of *Schinus*. pp. 7-21. In R. Workman (ed.). *Schinus-* technical proceedings of techniques for control of *Schinus* in South Florida: a workshop for natural area managers, 2 december 1978. The Sanibel Captiva Conservation Foundation, Inc., Sanibel, Fl.

- EWEL J., OJIMA D., KARL D., & DEBUSK W. 1982. *Schinus* in successional ecosystems of Everglades National Park. South Florida Res. Cent. Rep. T-676. Everglades National Park, National Park Service, Homestead, Florida.
- FAOSTAT 2013. Food and Agriculture Organization of United Nations. Pistachio-Production quantities by country (<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E>) (Fecha de Acceso: 16 dec 2013).
- FLEPPC 2018. Florida Exotic Pest Plant Council- List of invasive plant species. Retrieved from <http://www.fleppc.org/list/list.htm>.
- FLORENS F.B.V., BISESSUR P., BUNSY Y., & RAMDONEE D. 2017. *Cibdela janthina* (Klug 1834) (Hymenoptera: Tenthredinidae), Réunion's Biocontrol Agent of *Rubus alceifolius* Poir., Recorded on Mauritius. *African Entomology* 25: 271-274.
- FUTUYMA D.J., MORENO G. 1988. The evolution of ecological specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics* 19: 207-233.
- GADEK P.A., FERNANDO E.S., QUINN C.J., HOOT S. B. TERRAZAS T., SHEAHAN M.C., & CHASE M.W. 1996. Sapindales: molecular delimitation and infraordinal groups. *American Journal of Botany* 83: 802-811.
- GALLEGO C., STEEVENS J., CAICEDO A.M., CARABALÍ A., & MUÑOZ J.E. 2012. Comportamiento alimenticio y de oviposición de *Compsus viridivittatus* (Coleoptera: Curculionidae) en especies de cítricos. *Revista Colombiana de Entomología* 38: 191-195
- GOOLSBY J.A., VAN KLINKEN R.D., & PALMER W.A. 2006. Maximising the contribution of native-range studies towards the identification and prioritization of biocontrol agents. *Australian Journal of Entomology* 45: 276-286.
- HABECK D.H. 1995. Biological control of Brazilian peppertree. *Florida Naturalist* 68: 9-11.

- HABECK D.H., BENNETT F.D., & GRISSELL E.E. 1989. First record of a phytophagous seed chalcid from Brazilian peppertree in Florida. *Florida Entomologist* 72: 378-379.
- HEARD T.A. 2000. Concepts in insect host-plant selection behavior and their application to host specificity testing. Pp. 1-9. En: Spencer, N y Nowierski, R. (eds.) *Proceedings of the Xth International Symposium on Biological Control of Weeds*. Bozeman, Montana, USA. 4 – 14 julio, 1999.
- HEARD T.A., & PETTIT W. 2005. A review of the surveys for natural enemies of *Mimosa pigra*: what does it tell us about surveys for broadly distributed hosts? *Biological Control* 34: 247-254.
- HEARD T.A., & VAN KLINKEN, R.D. 1998. An analysis of test designs for host range determination of insects for biological control of weeds. Proc. V Australian applied entomological Research Conference. Pp. 539-546.
- HEPPNER J.B. 2002. A Checklist of the Lepidoptera of Florida. Museum of entomology of FSCA (Gainesville). Disponible en: <http://www.fsca-dpi.org>.
- HIGHT S.D., CUDA J.P, & MEDAL J.C. 2002. Brazilian peppertree, pp. 311-321 En: R. G. Van Driesche, S. Lyon, B. Blossey, M. S. Hoddle and R. Reardon (eds.), *Biological Control of Invasive Plants in the Eastern United States*, USDA Forest Service, Morgantown, WV. 413 pp.
- HIGHT S.D., HORIUCHI I., VITORINO M.D., WIKLER C., & PEDROSA-MACEDO J.H. 2003. Biology, host specificity tests, and risk assessment of the sawfly *Heteroperreyia hubrichi*, a potential biological control agent of *Schinus terebinthifolius* in Hawaii. *BioControl* 48: 461-476.
- HILL R.L. 1999. Minimizing uncertainty – in support of no-choice tests, pp. 1-10 In T. M. Withers, L. Barton Browne and J. Stanley (eds.), *Host Specificity Testing in Australasia*. CRC for Tropical Pest Management, Brisbane, Australia. 98 pp.

- HUFFAKER C.B. 1964. Fundamentos del control biológico de malas hierbas. Pp. 741-760 En: De Bach, P. ed. Control Biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. CECSA. México. 929 pp.
- JOLIVET P., & PETITPIERRE E.1981. Biology of Chrysomelidae (Coleoptera). *Butlletí de la Institució Catalana d'Historia Natural* 47: 105-138.
- JUSTO A.M., & PARRA P.A. 2005. Perfil breve y análisis del mercado de frutas secas. Producción tradicional y orgánica. Documento de Trabajo N° 32, Instituto de Economía y Sociología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.
- JESSUP L.W. 1985. Anacardiaceae. Flora of Australia Online. Australian Biological Resources Study, Canberra. <http://www.environment.gov.au/biodiversity/abrs/onlineresources/flora/main/index.html>
- KALISCHUK A.R., BOURCHIER R.S., MCCLAY A.S. 2004. Post hoc assessment of an operational biocontrol program: efficacy of the flea beetle *Aphthona lacertosa* Rosenhauer (Chrysomelidae: Coleoptera), an introduced biocontrol agent for leafy spurge. *Biological Control* 29: 418-426.
- KAWAHARA A.Y. 2010. Phylogenomics, life-history, evolution and taxonomy of leaf mining moths (Lepidoptera: Gracillarioidea). Ph.D. Dissertation. University of Maryland, College Park. 170 pp.
- KHARBOUTLI M.W., & MACK T.P. 1991. Relative and seasonal abundance of predaceous arthropods in Alabama peanut fields as indexed by pitfall traps. *Journal of Economical Entomology* 84: 1015-1023.
- KEANE R.M., & CRAWLEY M.J. 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 164-170.



- KNUTSON K., TRACY J., MICHELS J., JONES E., MUEGGE M., RITZI C., & DELOACH J. 2014. Establishment, dispersal and impact of three species of *Diorhabda* leaf beetles released for the biological control of saltcedars, *Tamarix* species, in Texas. *En: Impson FAC, Kleinjan CA, Hoffmann JH (eds) Proceedings of the XIV international symposium on biological control of weeds*. University of Cape Town, Kruger National Park, South Africa, pp 96.
- KRAUSS N.L. 1963. Biological control investigations on Christmas berry (*Schinus terebinthifolius*) and *Emex* (*Emex* spp.). *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* 18: 281-287.
- LANTERI A.A., MARVALDI A.E., & SUÁREZ S.M. 2004. Coleoptera: Apionidae (Pág. 3). *En: Cordo, H.A., G. Logarzo, K. Braun y O. Di Iorio (Directores). Catálogo de Insectos Fitófagos de la Argentina y sus Plantas Asociadas*. Soc. Entomol. Argent., Bs. As., Argentina.
- LE BOURGEOIS T., BARET S., & DESMIER DE CHENON R. 2011. Biological control of *Rubus alceifolius* (Rosaceae) in La Réunion Island (Indian Ocean): from investigations on the plant to the release of the biocontrol agent *Cibdela janthina* (Argidae). *Proceedings of the XIII International Symposium on the Biocontrol of Weeds*, 11–16 September 2011, Hawaii, U.S.A.
- LUÍZA SILVA-LUZ C., RUBENS PIRANI J., DANIEL MITCHELL J., DALY D., DO VALLE CAPELLI N., DEMARCO D., PELL S.K., PLUNKETT G.M. 2018. Phylogeny of *Schinus* L. (Anacardiaceae) with a new infrageneric classification and insights into evolution of spinescence and floral traits. *Molecular Phylogenetics and Evolution* doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.013>.
- MACK R.N. 1991. The commercial seed trade: an early disperser of weeds in the United States. *Economic Botany* 45: 257-273.
- MALAISE R. 1955. New and old South American saw-flies (Hym., Tenthredinidae). *Entomologisk Tidskrift* 76: 99-124.
- MARGHERITIS A.E., & RIZZO H.F.E. 1965. Lepidópteros de interés agrícola. Orugas, isocas y otras larvas que dañan a los cultivos. Sudamericana, Buenos Aires.

- MAROHASY J.J. 1998. The design and interpretation of host specificity tests for weed biological control with particular reference to insect behaviour. *Biocontrol News and Information* 19: 13-20.
- MARTIN C.G., CUDA J.P., AWADZI K.W., MEDAL J.C., HABECK D.H., & PEDROSA-MACEDO J.H. 2004. Biology and laboratory rearing of *Episimus utilis* (Lepidoptera: Tortricidae), a candidate for classical biological control of Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), in Florida. *Environmental Entomology*. 33: 1351-1361.
- MATHIEU A., DUMONT Y., CHIROLEU F., DUYCK P-F., FLORES O., LEBRETON G., REYNAUD B., & QUILICI S. 2014. Predicting the altitudinal distribution of an introduced phytophagous insect against an invasive alien plant from laboratory controlled experiments: case of *Cibdela janthina* (Hymenoptera: Argidae) and *Rubus alceifolius* (Rosaceae) in La Réunion. *BioControl* 59: 461-471.
- MAXWELL D.E. 1955. The comparative internal larval anatomy of sawflies (Hymenoptera: Symphyta). *Canadian Entomologist* 1: 1-132.
- McCLAY A.S., CRISP M.D., EVANS H. C., HEARD T., HUFBAUER R. A., QIN T.K., & SHAW R. 2004. Centres of origin: do they exist, can we identify them, does it matter? pp. 619-620. *En*: Cullen, J. M., D. T. Briese, D. J. Kriticos, W. M. Lonsdale, L. Morin, and J. K. Scott (eds.). *Proceedings of the XI International Symposium on Biological Control of Weeds, 27 April-2 May 2003, Canberra, Australia*. CSIRO, Canberra, ACT, Australia.
- McCLAY A. J., & BALCIUNAS K. 2005. The role of pre-release efficacy assessment in selecting classical biological control agents for weeds - Applying the Anna Karenina principle. *Biological Control* 35: 197-207.
- McEVOY P.B. 1996. Host specificity and biological pest control. *BioScience* 4: 401-405.
- McFADYEN, R. E. 1998. Biological control of weeds. *Annual Review of Entomology* 43: 369-393.

- MEDAL J.C., VITORINO M.D., HABECK D.H., GILLMORE J.L., PEDROSA J.H., & DE SOUSA L. P. 1999. Host specificity of *Heteroperreyia hubrichi* Malaise (Hymenoptera: Pergidae), a potential biological control agent of Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius*). *Biological Control* 14: 60-65.
- MELO A.S., FROELICH C.G. 2001. Evaluation of methods for estimating macroinvertebrate species richness using individual stones in tropical streams. *Freshwater Biology* 46: 711-721.
- MERLO M.J., PARIETTI M., & ETCHEGOIN J.A. 2010. Evaluation of species richness estimators in studies of diversity involving two larval digenean communities parasitizing snail hosts. *Parasitology Research* 107: 1093-1102.
- MITCHELL J.D., DOUGLAS C.D., PELL S. K., & RANDRIANASOLO A. 2006. *Poupartiopsis* gen. nov. and its context in Anacardiaceae classification. *Systematic Botany* 31: 337-348
- MITTER C., & FARRELL B. 1991. Macroevolutionary aspects of insect-plant interactions. *En: Bernays, E. (Ed.), Insect-Plant Interactions*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 35-78.
- MOLDENKE A.R. 1970. A revision of the Clytrinae of North America north of the Isthmus of Panama. Stanford University, Stanford. 310 pp.
- MOREIRA G.R.P., ELTZ R.P., PASE R.B., SILVA G.T., BORDIGNON S.A.L., MEY W., & GONÇALVES G.L. 2017. *Cecidonius pampeanus*, gen. et sp. n.: an overlooked and rare, new gall-inducing micromoth associated with *Schinus* in southern Brazil (Lepidoptera, Cecidosidae). *ZooKeys* 695: 37-74.
- MORROW P.A., BELLAS T.E., & EISNER T. 1976. Eucalyptus Oils in the Defensive Oral Discharge of Australian Sawfly Larvae (Hymenoptera: Pergidae). *Oecologia* 24: 193-206.
- MORTON J.F. 1978. Brazilian pepper-Its impact on people, animals and the environment. *Economical Botany* 32: 353-359.

- MÜLLER-SCHÄRER H., & SCHAFFNER U. 2008. Classical biological control: exploiting enemy escape to manage plant invasions. *Biological Invasions* 10: 858-874.
- MÜLLER-SCHÄRER H., LEWINSOHN T.M., & LAWTON J.H. 1991. Searching for weed biological control agents: when to move on? *Biocontrol Science and Technology* 1: 271–280.
- MUÑOZ J.D. 1990. Anacardiaceae. En: Spichiger, R. y Ramella, L. (ed.) Flora del Paraguay. Editions des conservatoire et jardin botaniques de la Ville Gèneve. 84 pp.
- MUÑOZ J.D. 2000. Anacardiaceae, pp. 1-28 En: A. T. Hunziker (ed.), Flora Fanerogámica Argentina 65. Conicet, Córdoba, Argentina.
- MYERS J.H., & BAZELY D.R. 2003. Ecology and Control of Introduced Plants. Cambridge Studies in Ecology Series. Cambridge Univ. Press, Cambridge
- MYTINGER L., & WILLIAMSON G.B. 1987. The invasion of *Schinus* into saline communities of Everglades National Park. *Florida Science* 50: 7-12.
- NIELSE E.S. 1985. Primitive (non-ditrysian) Lepidoptera of the Andes: diversity, distribution, biology and phylogenetic relationships. *Journal of Research on the Lepidoptera* 1: 1-16.
- NIELSEN E.S., & COMMON I.F.B. 1991. Lepidoptera (moths and butterflies) p.817-915. En: I.D. Naumann (ed.). The insects of Australia (2nd ed). Melbourne University Press, Carlton, Victoria & University College of London Press, London, 1137p.
- O'BRIEN C.W., & WIBMER G.J. 1982. Annotated checklist of the weevils (Curculionidae sensu lato) of North America, Central America, and the West Indies (Coleoptera: Curculionoidea). *Memoirs of the American Entomological Institute* 34: 1-382.
- OELRICHS P.B., MACLEOD J.K., SEAWRIGHT A.A., MOORE M.R., NG J.C., DUTRA F., RIET-CORREA F., MENDEZ M.C., & THAMSBORG S.M. 1999. Unique Toxic Peptides Isolated from Sawfly Larvae in Three Continents. *Toxicon* 37: 537-544.

- OLCKERS T., ZIMMERMANN H.G., & HOFFMANN J.H. 1995. Interpreting ambiguous results of host-specificity tests in biological control of weeds: assessment of two *Leptinotarsa sepecies* (Chrysomelidae) for the control of *Solanum elaeagnifolium* (Solanaceae) in South Africa. *Biological Control* 5: 336-344.
- 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: 605-613.
- PALMER W.A., & PULLEN K.R. 1995. The phytophagous arthropods associated with *lantana camara*, *L. hirsuta*, *L. urticifolia*, and *L. urticoides* (Verbenaceae) in North America. *Biological Control* 5: 54-72.
- PALMER W.A. 1999. The use of cut foliage instead of whole plants for host specificity testing of weed biocontrol insects—is this acceptable practice? pp. 20-29. *En: Withers, T. M., L. Barton Browne, and J. Stanley (eds.). Host Specificity Testing in Australasia: Towards Improved Assays for Biological Control. Cooperative Research Centre for Tropical Pest Management. Brisbane, Australia.*
- PASTRANA J.A. 2004. Los Lepidópteros argentinos. Sus plantas hospedadoras y otros sustratos alimenticios. K. Braun, G. Logarzo, H. A. Cordo, and O. R. Di Dorio (Coordinadores). *Sociedad Entomológica Argentina*, Eds. Viii + 334 pp.
- PAYNTER Q., FOWLER S.V., HUGH GOURLAY A., GROENTEMAN R., PETERSON P.G., SMITH L., & WINKS C.J. 2010. Predicting parasitoid accumulation on biological control agents of weeds. *Journal of Applied Ecology* 47: 575-582.
- PELL S. 2004. Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Tesis Doctoral. 172 pp. Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College.

- POGUE M.G. 2013. A review of the *Paectes arcigera* species complex (Guenée) (Lepidoptera, Euteliidae). *ZooKeys* 264: 125-163.
- PUPLESIS R., DISKUS A., & ROBINSON G.S. 2002a. New Neotropical Nepticulidae (Lepidoptera) from the western Amazon rainforest and the Andes of Ecuador. *Bulletin of Natural History Museum* 71: 19-58.
- PUPLESIS R., DISKUS A., ROBINSON G.S., & ONORE G. 2002b. A review and checklist of the Neotropical Nepticulidae (Lepidoptera). *Bulletin of Natural History Museum* 71: 59-76.
- PURCELL M., GOOLSBY J., & FORNO W. 2004. Foreign exploration. *En: biological Control of Invasive Plants in the United States, The Theory and Practice of Biological Control of Weeds*. Eric M. Coombs, Janet K. Clark, Gary L. Piper, and Alfred F. Cofrancesco, Jr., eds. Oregon State Press, Corvallis, USA.
- RAYMUNDO D.L., BEZERRA JR P.S., BANDARRA P.M., PEDROSO P.M.O., OLIVEIRA E.C., PESCADOR C.A. & DRIEMEIER D. 2008. Spontaneous poisoning by larvae of *Perreyia flavipes* (Pergidae) in sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28:19-22.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2012). R: A language and environment for statistical computing (Version 3.1.5). R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- REES C.J.C. 1969. Chemoreceptor specificity associated with choice of feeding site by the beetle *Chrysolina brunsvicensis* on its foodplant *Hypericum hirsutum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 12: 565-583.
- RIZZO H.F. 1977. Catálogo de insectos perjudiciales en cultivos de la Argentina. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- ROBINSON G.S., ACKERY P.R., KITCHING I.J., BECCALONI G.W., & HERNÁNDEZ L.M. 2010. HOSTS - A Database of the World's Lepidopteran Hostplants. Natural History Museum, London.

- <http://www.nhm.ac.uk/hosts>. SAS INSTITUTE, 1990. SAS/STAT User's Guide. Version 6. SAS Institute, Cary, NC.
- RODGERS L., BODLE M. J., BLACK D., & LAROCHE F. 2012. Status of nonindigenous species. 7-1-7-35. West palm beach, fl: south florida water management district.
- RODGERS L., PERNAS T., & HILL S.D. 2014. Mapping invasive plant distributions in the Florida Everglades using the digital aerial sketch mapping technique. *Invasive Plant Science and Management* 7: 360-374.
- RSTUDIO (2012). RStudio: Integrated development environment for R (Version 1.1.453) Boston, MA. <http://www.rstudio.org/>
- SCHAFFNER U. 2001. Host range testing of insects for biological weed control: How can it be better interpreted? *Bioscience* 51: 951-959.
- SCHIEFFER S.J., & GRISSELL E.E. 2003. Tracing the geographical origin of *Megastigmus transvaalensis* (Hymenoptera: Torymidae): an African wasp feeding on a South American plant in North America. *Molecular Ecology* 12: 415-421.
- SCHMIDT S., & SMITH D.R. 2006. An annotated systematic world catalogue of the Pergidae (Hymenoptera). *Contributions of the American Entomological Institute* 34: 1-207.
- SCHMITZ D.C., SIMBERLOFF D., HOFSTETTER R.L., HALLER W.T., & SUTTON D. 1997. The ecological impact of nonindigenous plants. *En: Simberloff, D., Schmitz, D.C., Brown, T.C. (Eds.), Strangers in Paradise: Impact and Management of Nonindigenous Species in Florida*. Island Press, Washington, DC, pp. 39-61.
- SHEPPARD A.W., HILL R., DE CLERCK-FLOATE R., MCCLAY A., OLKERS T., QUIMBY P.C., & ZIMMERMANN H.G. 2003. A global review of risk-benefit-cost analysis for the introduction of classical biological control agents against weeds: A crisis in the making? *Biocontrol News and Information* 24: 91-108.

- SHEPHERD R.C.H. 1990. Problems which arise with the host-specificity testing of insects. In E. S. Delfosse, [ed.], *Proceedings of the VII International Symposium on Biological Control of Weeds*, 6-11. March 1988, Rome, Italy. Instituto Sperimentale per la Patologia Vegetale Ministero dell' Agricoltura e delle Foreste, Rome/CSRIO, Melbourne, Australia. 701 pp.
- SMITH D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphyta) of America south of the United States: Pergidae. *Revista Brasileira do Entomologia* 34: 7-200.
- SMITH D., & BROWN T. 1994. An assessment of invasive non-indigenous species in Florida's public lands. TSS-94-100, 10-28. Florida Department of Environmental Protection, Tallahassee.
- STATSOFT INC. 1984-2000. Statistica, Tulsa, OK: USA.
- STIEFEL V., & MARGOLIES D.C. 1998: Is host plant choice by a clytrine leaf beetle mediated through interactions with the ant *Crematogaster lineolata*?. *Oecologia* 115: 434-438.
- TALLAMY D.W. 2000. Physiological issues in host range expansion. Pp: 11-26. En: Spencer, N y Nowierski, R. (eds.) *Proceedings of the Xth International Symposium on Biological Control of Weeds*. Bozeman, Montana, USA. 4 – 14 julio, 1999.
- USDA-APHIS 2018. [HTTPS://WWW.APHIS.USDA.GOV/APHIS/OURFOCUS/PLANTHEALTH/IMPORT-  
INFORMATION/PERMITS/REGULATED-ORGANISM-AND-SOIL-PERMITS/BIOLOGICAL-  
CONTROL-ORGANISM  
PERMITS/SA\\_TAG/CT\\_TECHNICAL\\_ADVISORY\\_GROUP\\_BIOLOGICAL\\_CONTROL\\_AGENTS\\_WEE  
DS](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/import-information/permits/regulated-organism-and-soil-permits/biological-control-organism-permits/sa_tag/ct_technical_advisory_group_biological_control_agents_weeds)
- USDA-NRCS 2018. THE PLANTS DATABASE. [3.5 (HTTP://PLANTS.USDA.GOV)]. 2014. Baton Rouge, LA, National Plant Data Center.
- VAN DRIESCHE R.G., HODDLE M.S., & CENTER T.D. 2007. Control de Plagas y Malezas por Enemigos Naturales, 751 p.



- VAN KLINKEN R.D. 2000. Host Specificity Testing: Why Do We Do It and How We Can Do It Better. Proceedings of Session: Host Specificity Testing of Exotic Arthropod Biological Control Agents: The Biological Basis for Improvement in Safety. *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds* - July 4-14, 1999. Ed: Spencer, N. R. - Montana State University, Bozeman, Montana, U.S.A.
- VAN KLINKEN R.D., & CAMPBELL S.D. 2001. The biology of Australian weeds 37. *Prosopis* l. Species. *Plant Protection Quarterly* 16: 2-20.
- VAN NOORT S., STONE G.N., WHITEHEAD V.B., & NIEVES-ALDREY J.L. 2007. Biology of *Rhoophilus loewi* (Hymenoptera: Cynipoidea: Cynipidae), with implications for the evolution of inquiline in gall wasps. *Biological Journal of the Linnean Society* 90: 153-172.
- VITORINO M.D., PEDROSA-MACEDO J.H., & CUDA J.P. 2000. Biology and Specificity Tests of the Sawfly - *Heteroperreyia hubrichi* Malaise, 1955 (Hymenoptera: Pergidae) a Potential Biological Control Agent for Brazilian Peppertree - *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), pp. 645-650 In N. R. Spencer, (ed.), *Proceedings of the X International Symposium on Biological Control of Weeds*, 4-9. July 1999, Bozeman, MT. USDA-ARS/Montana State University, Bozeman. 1030 pp.
- VITORINO M.D., CHRIST L.R., BARBIERI G., CUDA J.P., & MEDAL J.C. 2011. *Calophya terebinthifolii* (Hemiptera: Calophyidae), a candidate for biological control of *Schinus terebinthifolius* (Saphindales: Anacardiaceae): feeding preferences and impact studies. *Florida Entomologist* 94: 694-695.
- WAGNER D.L., LOOSE J.L., FITZGERALD T.D., DEBENEDICTUS J.A., & DAVIS R.D. 2000. A hidden past: the hypermetamorphic development of *Marmara arbutiella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Annals of Entomological Society of America* 93: 59-64.

- WAPSHERE A.J. 1974. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control. *Annals of Applied Biology* 77: 201-211.
- WAPSHERE A.J. 1989. A testing sequence for reducing rejection of potential biological control agents for weeds. *Annals of Applied Biology* 114: 515-526.
- WHEELER G.S., MASSEY L.M., & ENDRIES M. 2001. The Brazilian peppertree drupe feeder *Megastigmus transvaalensis* (Hymenoptera: Torymidae): Florida distribution and impact. *Biological Control* 22: 139-148.
- WHEELER G.S., MASSEY L.M. & SOUTHWELL I.A. 2002. Antipredator defense of biological control agent *Oxyops vitiosa* is mediated by plant volatiles sequestered from the host plant *Melaleuca quinquenervia*. *Journal of Chemical Ecology* 28: 297-315.
- WHEELER G.S. 2005. Maintenance of a narrow host range by *Oxyops vitiosa*; a biological control agent of *Melaleuca quinquenervia*. *Biochemical Systematics and Ecology* 33: 365-383.
- WHEELER G.S. 2013. A Florida defoliator, *Nystalea ebalea* (Lepidoptera: Notodontidae), found feeding on Brazilian peppertree. *Florida Entomologist* 96: 1228-1230.
- WHEELER G.S., & SCHAFFNER U. 2013. Improved understanding of weed biological control safety and impact with chemical ecology: A review. *Invasive Plant Science and Management* 6: 16-29.
- WIBMER G.J., & O'BRIEN C.W. 1986. Annotated checklist of the weevils (Curculionidae *sensu lato*) of South America (Coleoptera: Curculionoidea). *Memoires of the American Entomological Institute* 39. The American Entomological Institute, Gainesville, FL. 563 pp.
- WILLIAMS D.A., OVERHOLT W.A., CUDA J.P., & HUGHES C.R. 2005. Chloroplast and microsatellite DNA diversities reveal the introduction history of Brazilia Peppertree (*Schinus terebinthifolius*) in Florida. *Molecular Ecology* 14: 3643-3656.

- WILLIAMS D.A., MUCHUGU E., OVERHOLT W.A., & CUDA J.P. 2007. Colonization patterns of invasive Brazilian peppertree, *Schinus terebinthifolius*, in Florida. *Heredity* 1-10.
- WINSTON R.L., SCHWARZLÄNDER M., HINZ H.L., DAY M.D., COCK M.J.W., JULIEN M.H. 2014. Biological Control of Weeds: a World Catalogue of Agents and their Target Weeds (5th ed.). USDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team, Morgantown, West Virginia, USA, FHTET-2014-04, p. 838.
- WITT A.B.R. 2004. Initial screening of the stem-boring weevil *Osphilia tenuipes*, a candidate agent for the biological control of *Bryophyllum delagoense* in Australia. *Biocontrol* 49: 197-209.
- WOODALL S. 1979. Physiology of *Schinus*, pp. 3-6. In R. Workman [ed.], *Schinus-Proceedings of techniques for control of Schinus in South Florida*, December 2. The Sanibel Captiva Conservation Foundation, Inc., Sanibel, FL.
- WOODRUFF R.E. 1985. Citrus weevils in Florida and the West Indies: preliminary report on systematics, biology and distribution (Coleoptera: Curculionidae). *Florida Entomologist* 68: 370-379.
- YOSHIOKA E.R., & MARKIN G.P. 1991. Efforts of biological control of Christmas berry *Schinus terebinthifolius* in Hawaii, pp. 377-385. In: T. D. Center, R. F. Doren, R. L. Hofstetter, R. L. Myers, and L. D. Whiteaker (eds.), *Proceedings of the Symposium on Exotic Pest Plants*, 2-4. November 1988, Miami, FL. U. S. Dept. Interior, National Park Service, Washington, DC. 387 pp.
- ZALUCKI M.P., & VAN KLINKEN R.D. 2006. Predicting population dynamics and abundance of introduced biological agents: science or gazing into crystal balls. *Australian Journal of Entomology*, 45: 331-344.

Fernando Mc Kay

Guillermo A. Logarzo