

CAPÍTULO 17: PREDICCIÓN DE LOS RANGOS HOSPEDEROS DE LOS ENEMIGOS NATURALES

Después de que se ha tomado una decisión para invertir recursos en la estimación del rango de hospederos de un candidato específico como agente de control biológico, se necesita conocer técnicamente cómo hacerlo bien. Las fuentes útiles de información en la estimación del rango de hospederos de una especie incluyen: (1) registros de literatura, (2) inspecciones en el rango nativo de distribución, (3) pruebas en laboratorios de cuarentena, y (4) experimentos de campo en el rango nativo. A continuación se describe cómo contribuye cada una de estas fuentes a la estimación de los rangos probables de hospederos de parasitoides, artrópodos depredadores y herbívoros, y de los patógenos.

REGISTROS EN LA LITERATURA

Al inicio de cualquier proyecto, es probable que los investigadores hagan un inventario del conocimiento de los enemigos naturales de la plaga a controlar, tal como se refleja en la literatura publicada o anotada con los especímenes en las colecciones. La literatura de los registros de hospederos para estas especies puede ser reunida, obteniendo alguna impresión inicial de cuál enemigo natural de la plaga muestra especificidad. La información en las bases de datos computarizadas (ver especialmente CAB y Agrícola) omiten el material publicado antes de 1971, cuando empezó la computarización de estos datos. La literatura antigua (generalmente al menos desde 1900 o antes, si es necesario) debe ser recopilada a mano, a partir de los resúmenes de revistas como los "Abstracts of Applied Entomology" o trabajos todavía más antiguos sobre historia natural regional o taxonomía de grupos particulares. Las colecciones de museos en los países donde las inspecciones todavía son conducidas son importantes fuentes de información, como los especímenes de los enemigos naturales que pueden incluir información de la cría o de alimentación.

El uso de la información a partir de registros en la literatura debe tener en cuenta algunos aspectos potenciales que afectan el significado o la calidad de los registros de la literatura, incluyendo (1) biotipos y simbioses, (2) errores, (3) información negativa, y (4) rangos de hospederos de especies relacionadas.

BIOTIPOS Y SIMBIONTES

Un problema general con la información de los registros de literatura es que la plaga o la especie de enemigo natural de interés puede consistir de una serie de poblaciones separadas biológicamente que han sido agrupadas erróneamente por su similitud morfológica. Por ejemplo, las poblaciones del helecho trepador del Viejo Mundo de diferentes partes de Queensland, Australia, difieren en si el ácaro *Floracarus perrepae* Knihinicki & Boczek puede atacar la planta o no (Goolsby *et al.*, 2006b). Similarmente, las poblaciones de la misma composición genética pueden diferir en la posesión o carencia de los simbiontes que confieren resistencia a algunos parasitoides. Por ejemplo, algunas razas de bacterias *Hamiltonella defensa* hacen que los áfido de la arveja *Acyrtosiphon pisum* (Harris) sean resistentes al braconido *Aphidius ervi* Haliday (Oliver *et al.*, 2005).

Similarmente, una especie de enemigo natural puede existir como poblaciones diferenciadas regionalmente que difieren en sus rangos de hospederos. Por ejemplo, los análisis moleculares han demostrado que el braconido *Microctonus aethiopodes* Loan, usado para el control de varios picudos de plantas forrajeras, consisten de al menos dos biotipos, uno (de Marruecos) asociado a *Sitona discoideus* Gyllenhal y el otro (europeo) a *Sitona lepidus* Gyllenhal y a especies de *Hypera* (Vink *et al.*, 2003). Ya que la raza europea era partenogenética, ambas razas podían ser empleadas en Nueva Zelanda contra diferentes plagas, sin cruzamiento genético (Goldson *et al.*, 2005). De igual forma, hay dos biotipos del parasitoide encírtido *Comperiella bifasciata* Howard, cada uno adaptado a parasitar solamente a una de dos especies de escamas cercanamente relacionadas. El biotipo de la escama amarilla de *C. bifasciata* parasita exitosamente a la escama amarilla, *Aonidiella citrina* (Coquillet) pero no se desarrolla sobre la escama roja de California, *Aonidiella aurantii* (Maskell) (Brewer, 1971) mientras que el biotipo de la escama roja hace lo contrario (Smith *et al.*, 1997).

Existen tres conclusiones importantes de la existencia de biotipos. Primero, deben desarrollarse marcadores genéticos para reconocer la identificación exacta de cualquier agente empleado, de manera que pueda ser diferenciado de especies de apariencia similar que estén presentes en el área de liberación. Segundo, los proyectos no deberían descartar una especie como prospecto de enemigo natural simplemente porque la literatura sugiere un amplio rango de hospederos. Su rango de hospederos necesita ser determinado si tales especies parecen ser potencialmente efectivas, para saber si la literatura podría no reflejar un complejo de biotipos en lugar del verdadero rango de hospederos de una sola población. Por ejemplo, una mosca dolichopódida que daña al lirio acuático en Suramérica fue de interés como control para esta maleza en los Estados Unidos y en Sudáfrica. Sin embargo, la que se creía que se alimentaba en una sola especie ocurría en algunas otras plantas de la familia Pontederiaceae, lo cual descartó su valor potencial. El estudio taxonómico cuidadoso, sin embargo, reveló la presencia de un complejo de al menos nueve especies, cinco de las cuales se alimentan del lirio acuático (Bickel y Hernández, 2004). Al menos dos de ellas, *Thrypticus truncatus* Bickel & Hernández y *Thrypticus sagittatus* Bickel & Hernández, parecen bastante específicos del hospedero y ahora están siendo consideradas como agentes potenciales del control biológico. Tercero, ya que los biotipos podrían existir dentro de una especie de enemigo natural, un proyecto debería evitar el error de evaluar el rango de hospederos de una población y después coleccionar individuos

de otra población o grupo de poblaciones para su liberación. Por ejemplo, la liberación del picudo de la melaleuca *Oxyops vitiosa* (Pascoe) fue restringido a los insectos colectados de un sólo lugar porque los de otro lugar parecían ligeramente diferentes (Madeira *et al.*, 2001).

ERRORES

Los investigadores y los administradores políticos que evalúan las solicitudes de liberación, deberían tener en cuenta que la literatura científica frecuentemente incluye algunos reportes erróneos porque el hospedero (o planta a controlar) o el parasitoide (o insecto herbívoro) fue mal identificado. Si un cierto enemigo natural está asociado con una especie en un sólo reporte, debería dársele menos credibilidad que a los registros de relaciones entre hospedero y parasitoide documentados múltiples veces. Por ejemplo, cuando fue enviada la solicitud para la liberación del picudo *O. vitiosa*, se mencionaron especímenes de museo colectados en dos lugares del interior fuera del rango normal de la planta hospedera *Melaleuca quinquenervia* (Cavier) Blake. Un revisor notó esto como evidencia de un rango de hospederos más amplio que lo indicado y no recomendó la liberación de este valioso al basarse en este reporte, el cual fue determinado posteriormente como erróneo en la literatura.

DATOS NEGATIVOS

Otra forma de usar la literatura es para identificar especies que han estado en extenso contacto con los enemigos naturales de interés pero que no son reportados en la literatura como hospederos (Nardo y Hopper, 2004). Ambas especies nativas en el área donante están relacionadas con especies de interés en las áreas receptoras y especies no nativas que pueden haber invadido o que han sido introducidas en el área donante pueden ser de interés. Por ejemplo, es probable que las plantas americanas importadas hacia Europa como ornamentales estén en contacto con insectos herbívoros en consideración para ser introducidos a Norteamérica. La carencia del ataque en Europa en tales plantas americanas, sugiere que no deberían ser atacadas en América si el agente fuera introducido. Balciunas *et al.* (1994b), por ejemplo, sacaron provecho del hecho que su laboratorio en Townsville, Australia, estaba a alguna distancia de los sitios de ocurrencia natural de *M. quinquenervia*. Sin embargo, la planta a controlar, como muchas de las plantas de interés probadas, también existía como ornamental en un estacionamiento local. Esto les dio la oportunidad de monitorear la presencia de *O. vitiosa* sobre esas plantas en forma regular. Observaron un promedio de 158 huevecillos/árbol, 108 larvas/árbol y 8 adultos/árbol sobre la planta problema pero virtualmente ninguna sobre cualquier otra de las 19 especies de Myrtaceae presentes, las cuales eran especies teóricamente bajo algún riesgo.

RANGO DE HOSPEDEROS DE LOS CONGÉNERES

¿El rango de hospederos de los congéneres de un candidato a agente de control biológico proporciona información sobre el rango de hospederos probable del agente? Para los parasitoides, el rango de hospederos de los congéneres no es muy útil porque muchos

géneros contienen especies con rangos de hospederos tanto amplios como estrechos. Por ejemplo, el género de taquínidos *Trichopoda* contiene a *T. giacomellii* (Blanchard), una especie estrechamente específica y a *T. pennipes* (Fabricius), una especie con un rango de hospederos significativamente más amplio (Huffaker y Messenger, 1976; Liljestrom, 1980). En contraste, el rango de hospederos de los congéneres de un herbívoro puede ser más informativo (p. ej., Zwölfer y Brandl, 1989; White y Korneyev, 1989). Por ejemplo, el picudo *Ceratopion basicorne* (Illiger) es de interés como un agente de control biológico de la centaurea amarilla (*Centaurea solstitialis* L.) en los Estados Unidos. Como parte de este esfuerzo, el rango de hospederos de los congéneres de este picudo están siendo investigados y colocados en un contexto filogenético (Smith, 2007) (Figura 17-1).

Known Host Plants of Close Relatives

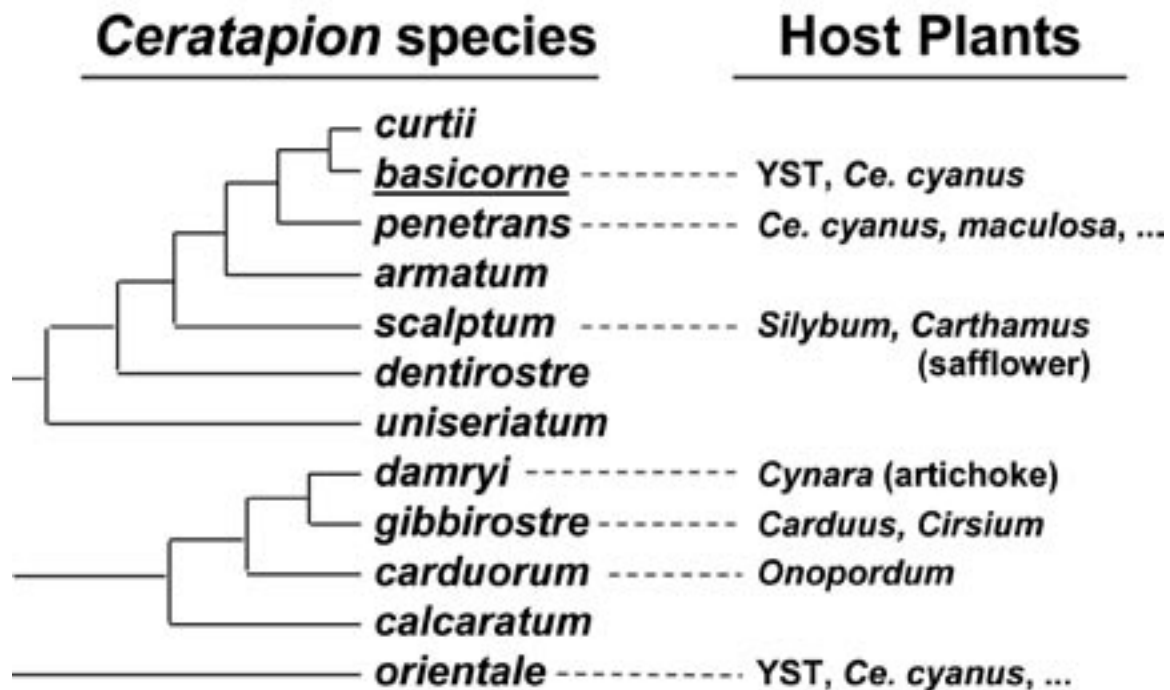


Figura 17-1. La información del rango de hospederos de parientes cercanos de un agente de control biológico puede sumarse al conocimiento del rango de hospederos probable de un agente. Aquí, el rango de hospederos de los picudos del género *Ceratopion* se presenta como un árbol filogenético para colocar al agente de control biológico, *Ceratopion basicorne* (Illiger) en un mejor contexto. (Imagen cortesía de Lincoln Smith, USDA-ARS.)

INSPECCIONES EN EL ÁREA DE ORIGEN DE DISTRIBUCIÓN

Las inspecciones en el rango nativo de distribución son estructuradas típicamente para descubrir los enemigos naturales asociados con la plaga a controlar. Sin embargo, después de hacer tales inspecciones y de escoger un candidato para la introducción, se puede inspeccionar más la región donante para determinar el rango de hospederos del agente de control. Aunque esto no indica dónde podría ser atacada una especie en particular en el país receptor propuesto, proporciona información acerca de la amplitud del rango de hospederos en la región donante. Por ejemplo, un picudo australiano de interés para el control biológico de la maleza acuática *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle se alimenta de otras 16 especies de plantas y coloca huevecillos en 11 especies en el laboratorio. Sin embargo, las inspecciones de campo conducidas en el rango nativo de las plantas mostró que el rango de hospederos era mucho más estrecho (Balcunas *et al.*, 1996).

Las inspecciones de campo en la región donante también pueden indicar los hábitats en los cuales se encuentra el agente. Por ejemplo, las inspecciones en Europa para buscar los parasitoides de una chinche mírida, han indicado en cuáles hábitat buscan huéspedes los braconidos *Peristenus digoneutis* Loan y *Peristenus stygicus* Loan (especies que están siendo introducidas a los Estados Unidos) (Kuhlmann y Mason, 2003).

Las inspecciones de campo en el rango nativo pueden ser combinadas con pruebas del rango de hospederos en laboratorio para validar la eficiencia de tales pruebas, al someter a otras especies en el país donante a las pruebas de laboratorio. El trabajo realizado en Europa sobre ocho especies de míridos seleccionadas, basadas en consideraciones filogenéticas (número de ramas en el cladograma de la familia desde los hospederos normales) junto al traslape espacial y temporal entre el hospedero normal y las otras especies de la prueba, mostraron que las pruebas de laboratorio sobrestimaban los rangos de hospederos y las tasas de ataque, en comparación con los resultados de las inspecciones de campo con las mismas especies (Haye *et al.*, 2005).

PRUEBAS DE LABORATORIO PARA ESTIMAR RANGOS DE HOSPEDEROS

Después de que los enemigos naturales han sido importados a la cuarentena del país receptor, estas especies deben ser evaluadas contra varias plantas nativas o económicamente importantes o con insectos hospederos, para predecir su rango probable de hospederos. Los métodos para hacerlo están bien desarrollados para los agentes de control biológico de malezas mientras que están en desarrollo los de los agentes dirigidos contra artrópodos plaga (ver Van Driesche y Reardon, 2004; Babendreier *et al.*, 2005; New, 2005). El trabajo se hace en las instalaciones de la cuarentena y los datos resultantes son usados para tomar la decisión de aprobar o no la liberación del agente en el medio ambiente. Existen varios aspectos en este proceso, incluyendo (1) escoger la lista de las especies a ser examinadas, (2) escoger cuál respuesta del agente se va a medir, como lo dicta en parte la biología del agente, (3) mantener animales de prueba y condiciones estándar, (4) escoger una jerarquía particular de los diseños de pruebas, e (5) interpretar los resultados.

ELABORACIÓN DE LA LISTA DE ESPECIES DE PRUEBA

Para los programas antiguos de control biológico de malezas (antes de 1960), las listas de prueba eran vistas como listas de especies de interés (la mayoría cultivos), para las que tenía que ser demostrada la seguridad de los herbívoros a ser introducidos para el control biológico. Ningún intento fue hecho para definir el rango de hospederos fundamental (según van Klinken, 2000) de los herbívoros sino, en su lugar, simplemente para asegurar la seguridad para un grupo específico de plantas. Dos resultados indeseables fueron asociados con este procedimiento. Primero, algunas plantas de la lista de prueba eran tan improbables de ser atacadas que las pruebas fueron una pérdida de tiempo y de recursos científicos humanos. Segundo, no fueron considerados los riesgos potenciales para las plantas sin importancia económica

Desde los años 1960s, se reconoció que las plantas a una distancia taxonómica en incremento de la maleza problema, estaban probablemente a un menor riesgo de ataque por un agente de control biológico de malezas. Esto ocurre porque la naturaleza fundamental de los compuestos secundarios del grupo de la planta frecuentemente es preservada en el tiempo evolutivo conforme se diversifica ese grupo de plantas. Al mismo tiempo, herbívoros especializados capaces de alimentarse sobre plantas localizaron esta diversificación con su propia evolución (Cornell y Hawkins, 2003). La relación taxonómica con la planta a controlar entonces fue una herramienta usada tempranamente para seleccionar las plantas de prueba más probables de estar en riesgo, un proceso que llega a ser llamado el método centrífugo (Wapshere, 1974a). Sin embargo, a veces existen plantas no relacionadas pero químicamente similares que también pueden estar en riesgo (p. ej., Wheeler, 2005).

Conforme esta perspectiva fue adoptada, la meta del procedimiento de prueba cambió, desde valorar la seguridad para una lista de especies *ad hoc* hasta definir los límites reales del rango de hospederos del agente de control (llamado el *rango fundamental de hospederos*). Antes de los 1990s, las especies de prueba fueron seleccionadas escogiendo representantes de cada una de las categorías en forma creciente (género, tribu, subfamilia, familia) en la jerarquía taxonómica. Ver Kuhlman *et al.* (2006a) para una revisión de los criterios de selección para las especies de prueba.

Desde los 1990s, con la llegada de las herramientas moleculares, ha habido una explosión de estudios que presentan árboles filogenéticos de grupos de plantas, basados en las secuencias de pares de bases de varios genes (Briese, 2005, 2006b). Ya que existen ahora estos árboles filogenéticos para una gran cantidad de grupos, es frecuente poder seleccionar especies de prueba basándose en el número de eventos de ramificación (en el sentido cladístico) que separa las plagas de las especies de prueba potenciales. Las especies entonces son seleccionadas de los grupos 1, 2, 3 o 4 de eventos de ramificación a partir de la especie a controlar, en lugar de los miembros del mismo género, tribu, subfamilia, etc., como se hizo previamente (p. ej., **Figura 17-2**). Sin embargo, es importante notar que la mayoría de las ramas en un cladograma tienen bajo significado estadístico y que el número de eventos de ramificación no tiene un significado absoluto. El mismo número de nodos puede denotar diferentes cantidades de distancia genética bajo algunas situaciones: (1) en árboles basados en el muestreo completo en comparación con el muestreo parcial de los taxa en los grupos, (2) en grupos con muchas especies vs grupos con menos especies, y

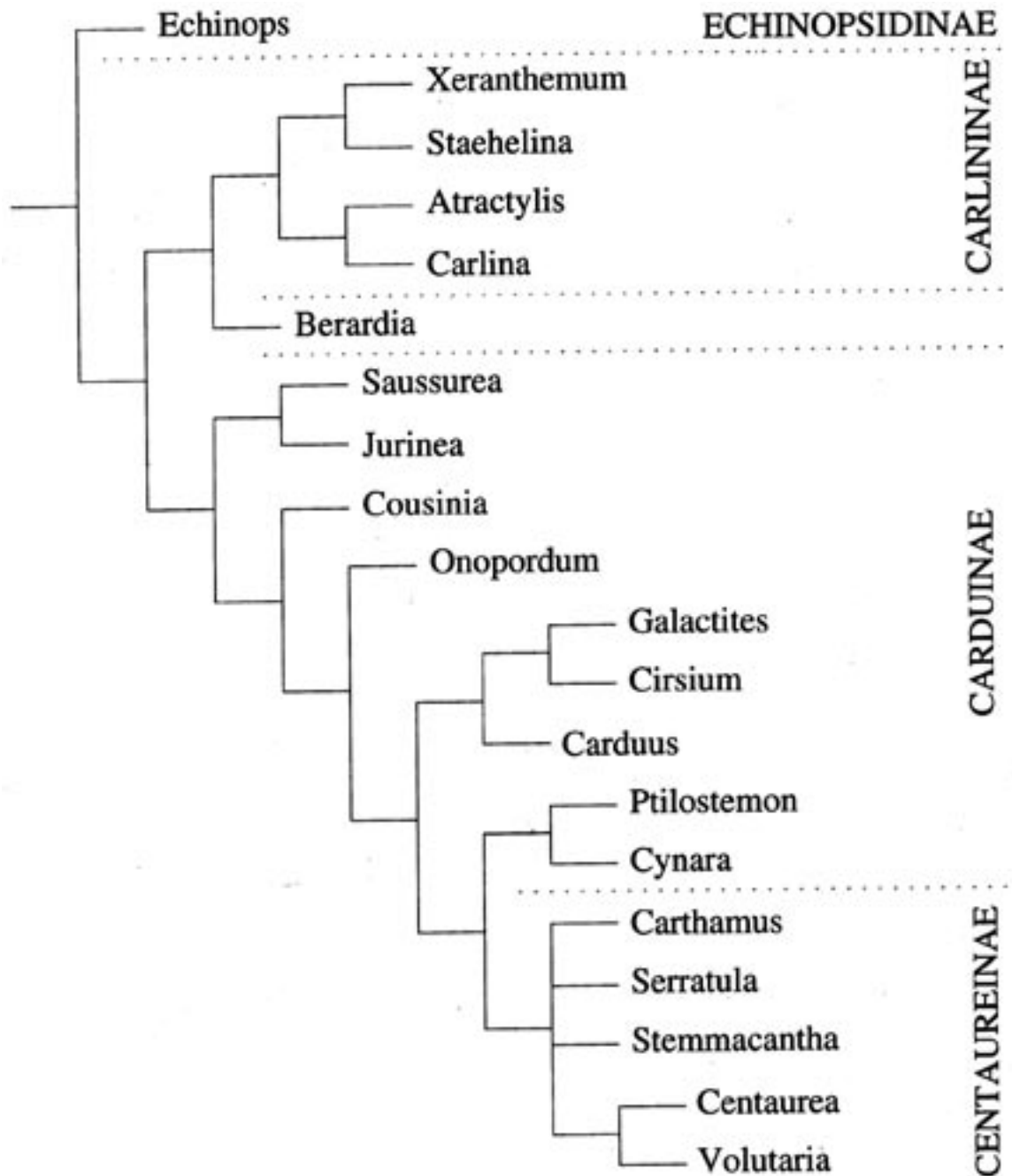


Figura 17-2. Un árbol filogenético de géneros de plantas en cuatro subfamilias, mostrando su distancia genética desde el género *Centaurea*, en el cual está localizada la plaga clave, la centaurea amarilla (*Centaurea solstitialis* L.). Usando estos árboles, ampliados para mostrar especies dentro de un género, puede usarse el número de eventos de ramificación para seleccionar con mayor precisión a las otras especies de prueba que tienen grados variables de relación con la plaga. (Imagen cortesía de Lincoln Smith, USDA-ARS.)

(3) si poblaciones de subespecies son incluidas como entidades en el árbol o no. Entonces, esta herramienta proporciona consejos para seleccionar las plantas de prueba pero no es necesariamente autoritaria. El mismo enfoque también puede ser usado para ayudar a interpretar los patrones del uso de hospederos (**Figura 17-3**).

Los árboles filogenéticos de las especies cercanamente relacionadas a la plaga son menos comunes en los proyectos de control biológico de insectos que en los de plantas, por lo que podrían no estar disponibles como herramienta para seleccionar a las especies a controlar en muchos proyectos. En tales casos, el investigador puede querer elaborar árboles para la tribu o la subfamilia en la cual reside la plaga. Si esto no es posible, las especies tendrían que ser seleccionadas con base a su colocación en la jerarquía de las categorías taxonómicas, la selección de especies del género, tribu, subfamilia, familia y orden de la plaga (Wapshere, 1974a). Heimpel (com. per.) sugiere que las secuencias del gene COI (u otros genes útiles) podrían ser usadas como medios de cuantificación del grado de relación entre la plaga y cada especie de prueba. Algunas veces puede ser necesario agregar especies de prueba adicionales si las distancias genéticas de una de las primeras

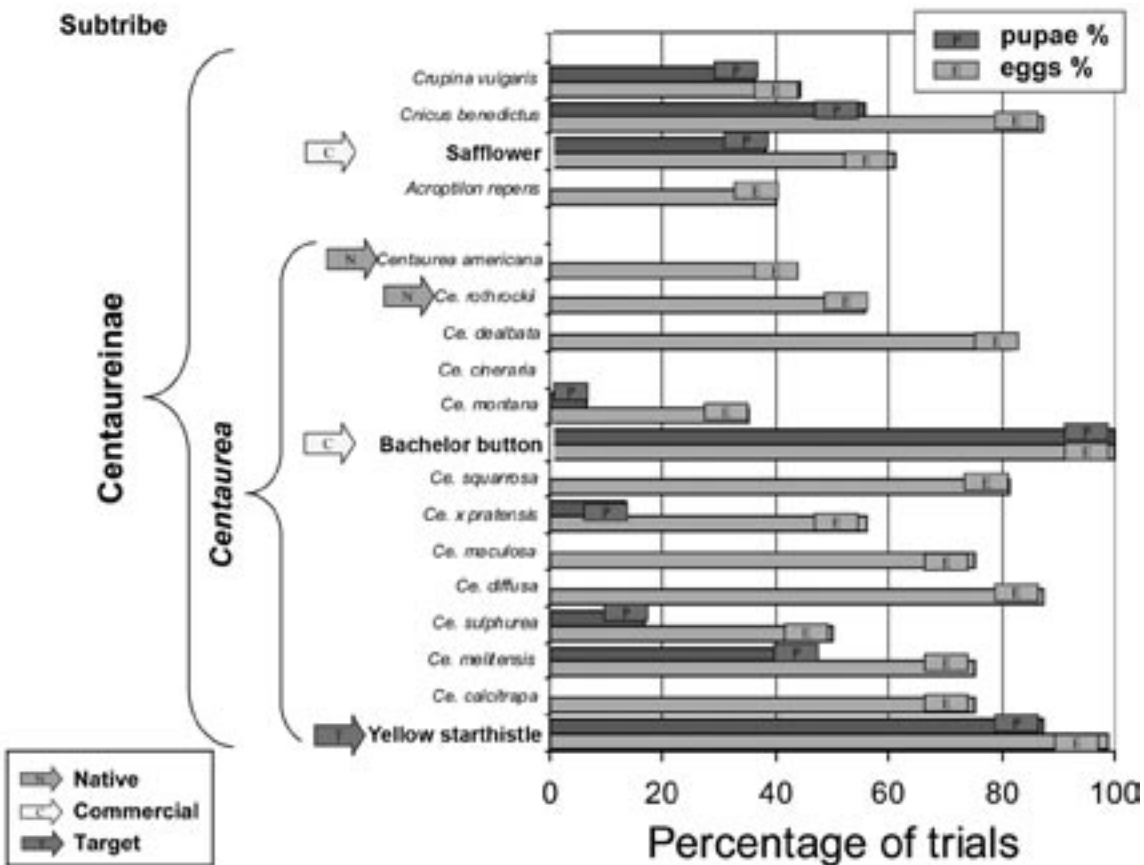


Figura 17-3. El colocar las respuestas a otras especies (diferentes a la plaga) en un diagrama filogenético puede ayudar en la interpretación de los datos. Aquí se aprecia el porcentaje de eventos que conducen a la oviposición y al empupamiento de la progenie sobre varias especies de prueba cuando han sido atacadas por *Ceratapion basicorne* (Illiger), un agente de control biológico potencial para la centaurea amarilla (*Centaurea solstitialis* L.). (Imagen cortesía de Lincoln Smith, USDA-ARS.)

selecciones prueba ser más pequeña de la supuesta, con base a su lugar taxonómico. Para el análisis después de que la prueba del rango de hospederos ha sido completada, la aceptación y/o disponibilidad de cada especie de prueba podría entonces ser graficada contra la distancia genética de cada especie desde la plaga, para determinar si la conveniencia del hospedero declina abruptamente o más gradualmente después de alguna distancia genética prescrita.

Este enfoque puede ser usado también, en principio, para seleccionar las especies de otros insectos (distintos a la plaga) como especies de prueba para definir los rangos de hospederos fundamentales de los parasitoides (Haye *et al.*, 2005). Sin embargo, a la fecha, muy pocos árboles filogenéticos están disponibles para insectos en comparación con los de las plantas. El mismo enfoque también podría ser recomendado al escoger las especies de hospederos para evaluar el rango de hospederos de los patógenos (de plantas o de insectos).

La selección de las especies de prueba debe considerar tanto la protección de las especies nativas relacionadas a la plaga clave como a los agentes de control biológico introducidos que podrían estar en el rango de hospederos del agente (Kuhlmann *et al.*, 2006a). Por ejemplo, los planes para introducir los parasitoides del picudo del repollo *Ceutorhynchus obstrictus* (Marsham) a Norteamérica, tienen que considerar a los picudos nativos relacionados con la plaga y a once especies exóticas del género ya usadas o propuestas para ser usadas como agentes de control biológico de malezas (Kuhlmann *et al.*, 2006b).

OBTENER RESPUESTAS MENSURABLES DE LOS INSECTOS

La estrategia para evaluar el rango de hospederos de un agente de biocontrol dependerá de cómo encuentra, evalúa y ataca a la plaga. En la mayoría de los casos, los hospederos son escogidos por el insecto adulto. Comúnmente, las respuestas medidas incluyen las siguientes:

(1) PREFERENCIAS DE OVIPOSICIÓN DE LOS ENEMIGOS NATURALES ADULTOS

Esta respuesta es significativa para un amplio rango de herbívoros, depredadores e insectos parasíticos. Se cree que es el estado limitante en la selección de hospederos por muchos herbívoros (excepto los que tienen larvas que deambulan). En contraste, los parasitoides pueden ovipositar en más especies que en las que sus larvas pueden desarrollarse, al menos los parasitoides internos cuyos hospederos tienen sistemas inmunes activos. Para los depredadores, la medición de la preferencia de oviposición será significativa sólo si la colocación de los huevecillos está cercanamente asociada con la presa.

(2) PREFERENCIA DE ALIMENTACIÓN DE LAS LARVAS O ADULTOS.

La preferencia de alimentación es un parámetro significativo para cualquier estado de vida que se alimente y que sea lo suficientemente móvil para tener una opción. Los adultos de algunos insectos herbívoros holometábolos (polillas, moscas) no pueden alimentarse en la planta hospedera de sus larvas mientras que los adultos de algunas especies en otros grupos como Coleoptera o Hemiptera sí lo hacen. Si tanto adultos

como larvas se alimentan, debería probarse qué tanto difieren sus opciones de alimento. Esto es cierto tanto para insectos herbívoros como para depredadores. Para las larvas, las pruebas de preferencia del alimento son significativas para las que se alimentan externamente, larvas móviles, las cuales pueden escoger. Pruebas con larvas neonatas y larvas más viejas deberían hacerse separadamente porque las larvas más viejas (con partes bucales más fuertes) pueden ser capaces de comer algunas especies que las larvas jóvenes no pueden. La preferencia de alimentación no tiene significado para los parasitoides internos o los insectos endofíticos como los minadores de hojas, para los cuales los sitios de alimentación son determinados por las opciones de oviposición de sus madres. En tales casos, el desarrollo y el crecimiento son los parámetros significativos a evaluar, dentro del rango de hospederos aceptado para la oviposición.

(3) CRECIMIENTO Y DESARROLLO LARVAL

Para todas las especies, pero especialmente para las que se alimentan internamente, la proporción de larvas que pueden completar su desarrollo exitosamente hasta el empupamiento, cuando se alimentan sobre un hospedero dado, es una medida muy significativa de la conveniencia del hospedero.

(4) OVOGÉNESIS Y CONTINUACIÓN DEL DESARROLLO

El paso siguiente en las características de la conveniencia del hospedero para el crecimiento y el desarrollo larval es medir si los insectos que maduran en un hospedero dado, son capaces de desarrollar las cantidades normales de los huevos, basándose solamente en los recursos adquiridos del hospedero por la larva o en esto más la alimentación posterior del adulto en el mismo hospedero (dependiendo del tipo de agente). Para los parasitoides, también es importante saber si la progenie criada en un hospedero mantiene una tasa sexual normal. Una extensión posterior de este grupo de pruebas de conveniencia es una prueba de continuación, en la cual el objetivo es determinar si el hospedero puede sostener una serie de generaciones del agente sin pérdida de fecundidad o de sobrevivencia.

ESCOGIENDO RESPUESTAS MENSURABLES DE LOS PATÓGENOS

Las pruebas de los patógenos de plantas se enfocan en la infectividad, basándose en la colocación artificial del inóculo (como las esporas) en los tejidos susceptibles, bajo condiciones físicas (temperatura, humedad relativa) conocidas para promover la infección en la plaga. Los resultados son medidos en términos de la frecuencia y severidad de cualquier infección resultante. Además, el curso de la infección y el grado de su impacto en la planta deben ser medidos. El mismo enfoque es utilizado para evaluar los rangos de hospederos de los patógenos de artrópodos. La principal diferencia con la evaluación de los patógenos de plantas es que para los patógenos de insectos, el único resultado común es la muerte mientras que para las plantas, hay otros posibles resultados de la infección, como la disminución del crecimiento, la deformación, la falla en la producción de semillas, etc. Atributos de los animales de prueba que deben ser estandarizados o regulados

Varios atributos de los animales que se incluyen en pruebas pueden afectar su disposición o la capacidad de comenzar comportamientos (alimentación, oviposición) que son medidos en las pruebas de estimación del rango de hospederos. Estos atributos incluyen la edad, estatus de hambre, estatus de apareamiento, contacto previo con la plaga, historia de la cría y el biotipo. La fecundación de una especie frecuentemente varía con la edad del individuo. Los parasitoides jóvenes de muchas especies, por ejemplo, necesitan tiempo para madurar los huevecillos antes de que muestren interés en los hospederos potenciales. Durante este período (o después, después de un ataque de oviposición), el comportamiento de un agente puede favorecer la alimentación sobre la oviposición si las reservas de carbohidratos se han terminado. Para los parasitoides, tanto los individuos apareados como los no apareados son capaces de atacar a los hospederos, pero sus opciones pueden diferir. Similarmente, está bien establecido que los contactos previos de un parasitoide con una especie hospedera pueden condicionarlo a preferir al hospedero conocido más que a las nuevas especies. Tal acondicionamiento puede extenderse también a la preferencia por el hospedero del cual nació. Finalmente, el biotipo de un agente formará su rango de hospederos. Para obtener resultados repetibles, todos los factores anotados deben ser considerados y traídos a condiciones estándar conforme se necesite para un sistema particular.

TIPOS DE DISEÑOS DE PRUEBAS Y SU INTERPRETACIÓN

La meta de la prueba es definir el rango de hospederos fundamental del agente (los límites determinados genéticamente para la preferencia y el desempeño) para poder predecir la especificidad de hospederos en el campo (Sheppard, 1999; Spafford-Jacob y Briese, 2003; Sheppard *et al.*, 2005; van Lenteren *et al.*, 2006b). Los diseños de pruebas son: las pruebas sin opción, con opción (en algunas variantes), continuación del desarrollo, ovogénesis y las pruebas a campo abierto.

PRUEBAS SIN OPCIÓN

En este diseño, el agente es confinado con una especie prueba a la vez. Las pruebas de alimentación larval sin opción son llamadas pruebas de hambre porque los insectos deben comer la planta de prueba (o presa) o morir de hambre. Las pruebas de oviposición sin opción son efectuadas con adultos. Este diseño fue el primer enfoque para probar los agentes de control de malezas y actualmente es usado también con insectos parasitoides o depredadores. En los 1970s y 1980s, las pruebas sin opción favorecieron cambiaron por las pruebas de preferencia (diseño de opción) para evaluar a los agentes de malezas (por ser “más naturales”) pero en los 1990s, el diseño sin opción fue usado de nuevo para incrementar la detección de otros hospederos de bajo rango (Briese, 1989b; Thompson y Habeck, 1989; Turner *et al.*, 1990; Adair y Scott 1993, 1997; Woodburn, 1993; Turner, 1994; Balciunas *et al.*, 1996; Peschken *et al.*, 1997; Scott y Yeoh, 1998, Briese, 2005). Es más probable que las pruebas sin opción detecten si una especie está dentro del rango fundamental de hospederos del agente que está siendo evaluado. Los efectos dependientes del tiempo (Browne y Withers, 2002) pueden ser detectados en los insectos en confinamiento por el incremento de los períodos sobre la planta de prueba. Las plantas o los insectos hospederos que son

aceptados, ya sea inmediatamente o después de un período moderado de hambre, son reportados como hospederos fisiológicos. El estatus de los hospederos que son aceptados después de pasar hambre en forma prolongada es debatible porque los insectos en la naturaleza probablemente podrían continuar buscando hospederos más aceptables. Las pruebas sin opción toman bastante tiempo ya que cada especie requiere de un régimen completo y separado de prueba. Los testigos positivos (exposición a la plaga problema) son necesarios para verificar que cualquier encuentro negativo con las otras especies de prueba seguramente puede ser interpretado como rechazado y no es debido a la no disponibilidad fisiológica de los individuos probados para alimentarse u ovipositar. Los testigos positivos son obtenidos al probar simultáneamente otros individuos de la misma generación o por la subsiguiente exposición de los individuos utilizados en la prueba principal con la plaga (esto último es mejor nombrado una prueba secuencial de elección). La exactitud de las pruebas de laboratorio sin opción en la predicción del rango fundamental de hospederos a ser evaluada, se hace comparando los datos de laboratorio con los patrones de ataque medidos en el campo en las mismas especies de prueba (Briese, 2005; Haye *et al.*, 2005). Un progreso real en esta área es posible durante la siguiente década.

PRUEBAS CON OPCIÓN

Aquí, las especies de prueba son presentadas al agente en grupos. Hay algunas variaciones de este diseño. Como es usado comúnmente, el agente es presentado simultáneamente, en la misma caja, con la plaga y con otras especies. Las pruebas de opción han sido usadas en dos circunstancias diferentes. Pueden ser usadas al principio de un programa de discriminación, para excluir rápidamente como no hospederos tantas especies como sea posible. La carencia de ataque sobre una especie fue interpretada implicando que una especie de prueba que no fue atacada era una especie no hospedera o una hospedera de bajo rango, sobre la cual no podría ocurrir en la naturaleza un ataque importante. Las pruebas de opción también pueden ser usadas después de una serie de pruebas sin opción para reexaminar a las otras especies que recibieron un ataque menor. Frecuentemente, las tasas de ataque sobre estas otras especies podrían ser bajas o nulas en presencia de la plaga, debido a la preferencia. La carencia de ataque, sin embargo, cuando es interpretada como indicativa del estatus de una especie como no hospedera (en lugar de sólo una hospedera de bajo rango), tiene el riesgo de dar resultados negativos falsos.

Las pruebas secuenciales de elección resuelven el problema de la preferencia del enmascaramiento del estatus de rango bajo. La plaga y las otras especies son presentadas una después de otra (A, B, A, B, A), donde A es la plaga y B una o varias especies diferentes. Este enfoque permite a cada especie ser considerada separadamente, incluyendo un testigo positivo para cada agente individual probado. Sin embargo, este diseño secuencial tiene la desventaja de que el agente está expuesto primero a la especie plaga, lo cual puede condicionar al agente, dando peso a su preferencia por la plaga. Un diseño alternativo es B, A, un largo descanso, B, A, lo cual resuelve este problema, si el tiempo entre las exposiciones (“descanso largo”) es suficiente para disipar los efectos del condicionamiento.

Una tercera variante es llamada prueba de opción sin testigo, en la cual los agentes de una fuente común seleccionados para usarse en una prueba son asignados al azar, ya sea (1) una jaula con muchas especies de plantas de prueba distintas a la plaga o (2) una jaula con sólo la plaga (p. ej., ver Heard *et al.*, 2005). La segunda jaula sirve como un testigo positivo de la lectura fisiológica de los insectos de prueba. La primera jaula separa rápidamente un grupo de plantas diferentes de la plaga, sin que los agentes estén siendo distraídos por la presencia de la planta clave (presumiblemente la hospedera de más alto rango). Este diseño, sin embargo, aunque es mejor que la prueba de opción que incluye a la maleza clave, puede aun pasar por alto los hospederos de bajo rango si estos son ignorados en la presencia de un hospedero de rango mucho más alto, siempre y cuando este hospedero sea una planta distinta a la maleza clave. Este problema puede ser resuelto más adelante repitiendo la prueba, removiendo las especies que recibieron el mayor ataque en el ciclo previo hasta que hayan sido evaluadas las especies con el rango más bajo.

PRUEBAS DE CONTINUACIÓN DEL DESARROLLO Y DE OVOGÉNESIS

Los efectos importantes sobre un hospedero distinto a la plaga clave son improbables si el agente de control no puede mantener su población solamente sobre esa especie (sin tal capacidad, los efectos indeseables podrían ser reducidos a impactos dispersos de individuos que migran desde la maleza, como ocurre durante los episodios de alta densidad sobre la maleza durante el ciclo de control inicial). Las pruebas de ovogénesis determinan si el agente puede formar huevos cuando se alimenta solamente de la especie de prueba. Las pruebas de continuación determinan si una especie puede alimentarse y reproducirse sobre la especie prueba por algunas generaciones sin reducción en la fecundidad, sobrevivencia o tamaño poblacional (Day, 1999). Buckingham *et al.* (1989), por ejemplo, encontraron que una población de la mosca *Hydrellia pakistanae* Deonier moría antes de ocho generaciones si se criaban exclusivamente en la maleza de estanque *Potamogeton crispus* L., la cual no era la maleza clave. En algunos casos, las pruebas de continuación *de facto* en otros países pueden proporcionar información valiosa en la evaluación del riesgo. En Sudáfrica, el mírido *Eccritotarus catarinensis* (Carvalho) fue liberado para control del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laub. En ensayos de laboratorio el mírido se alimentaba sobre *Pontederia cordata* L., una planta invasora no nativa en Sudáfrica. El mírido no pudo establecerse en poblaciones persistentes de la maleza, tanto en jaulas como en sitios donde el lirio acuático, con poblaciones del mírido, estaba adyacente a la otra maleza (Coetzee *et al.*, 2003). Estos resultados constituyen una prueba de continuación en campo y demuestran que, si la chinche fuera a ser introducida a los Estados Unidos (donde el lirio acuático es una plaga invasora pero la otra especie es una planta nativa), sería improbable que se estableciera por sí misma en ella.

PRUEBAS A CAMPO ABIERTO

Las pruebas a campo abierto han sido usadas principalmente con herbívoros, debido a la mayor capacidad de manipular las especies de prueba. Las pruebas son realizadas en exteriores, en una parcela de jardín común o en un sitio natural con la maleza clave,

donde son adicionadas las otras plantas en maceta (Clement y Sobhian, 1991; Briese *et al.*, 1995; Clement y Cristofaro, 1995; Briese, 1999). El agente puede estar presente en forma natural o es liberado artificialmente. El resultado anotado usualmente es el número de huevos colocados en cada planta de prueba. La prueba a campo abierto fue desarrollada a finales de los 1980s (p. ej., Clement y Sobhian, 1991), asumiendo que al sacar las plantas prueba y los insectos de las jaulas y al permitirles interactuar en un espacio abierto, se podrían eliminar los errores que ocurrían cuando a los insectos probados se les negaba la opción de dejar el sitio de prueba (dentro de las jaulas, cuando los insectos no pueden emigrar, a veces la oviposición se presenta sobre plantas que no se creía que fueran hospederas o aún sobre la jaula misma).

El uso de las pruebas a campo abierto requiere que las especies de interés a probar estén presentes en el país donante o que sea obtenido el permiso para importarlas. Esto es frecuentemente posible con plantas (las cuales pueden estar ya presentes a través de la importación o pueden ser importadas en forma segura para las pruebas y después ser destruidas sin escape o reproducción). Sin embargo, esto nunca es posible con los insectos porque los insectos nativos de interés para el país receptor podrían ser invasores potenciales en la región donante. Por esta razón, las pruebas a campo abierto raramente son usadas en el control biológico de insectos. Si se usan, formas congénicas del país donante son evaluadas como substitutas de las especies nativas del país receptor. Esto fue efectuado, por ejemplo, por Porter *et al.* (1995), quienes expusieron una serie de especies locales de hormigas en Brasil a fóridos parasitoides. Con este método fueron obtenidos datos que sugerían que estas moscas eran específicas de sus hospederos, al menos a nivel de género.

Las pruebas a campo abierto son pruebas de elección y pueden pasar por alto hospederos con bajo rango. Una solución parcial es el uso de “pruebas a campo abierto en dos fases” (Briese *et al.*, 2002c). Los pasos son (1) crear una parcela común de jardín que contenga la maleza clave y las otras plantas de prueba, (2) permitir a los candidatos a agentes de control biológico colonizar la parcela, (3) tomar datos sobre la alimentación y oviposición de los agentes, y después (4) matar las plantas de la maleza clave. Esto obliga a los agentes de control a cambiar y a aceptar los otros hospederos ofrecidos, emigrar o morir. Cuando este enfoque fue usado por Briese *et al.* (2002c) para cuatro especies candidatas que atacan a la maleza *Heliotropium amplexicaule* Vahl, una plaga en Australia, se encontró que tres agentes dejaron la parcela o murieron, pero una (un escarabajo pulga no identificado, *Longitarsus* sp.), cambió sus hábitos y se alimentó de la otra especie, *Heliotropium arborescens* L.

INTERPRETACIÓN DE LAS PRUEBAS

Las pruebas de opción y sin opción algunas veces pueden producir resultados opuestos (Tabla 17-1). Entre las causas probables de tal inconsistencia están (1) la preferencia de los hospederos, (2) el cambio dependiente del tiempo, y (3) la estimulación del sistema nervioso central. Además, cualquier prueba en jaulas puede ser influenciada por el confinamiento mismo, si la biología de la especie es distorsionada por el confinamiento.

Tabla 17-1. La interpretación de casos cuando los resultados de las pruebas de opción y sin opción no concuerdan (resultado negativo significa no aceptación y resultado positivo significa aceptación).

	PRUEBA DE OPCIÓN (RESULTADO NEGATIVO)	PRUEBA DE OPCIÓN (RESULTADO POSITIVO)
PRUEBA SIN OPCIÓN (RESULTADO NEGATIVO)	CASO I: ESPECIE DE PRUEBA FUERA DEL RANGO DE HOSPEDERAS	CASO II: ESPECIE DE PRUEBA FUERA DEL RANGO DE HOSPEDERAS, EL RESULTADO POSITIVO EN LA PRUEBA DE ELECCIÓN ES POSIBLE QUE SE DEBA A LA ESTIMULACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL POR OTRAS PLANTAS
PRUEBA SIN OPCIÓN (RESULTADO INMEDIATA- MENTE POSITIVO)	CASO IV-A: ESPECIE DENTRO DEL RANGO FISIOLÓGICO DE HOSPEDERAS Y PUEDE SER ACEPTADA EN EL CAMPO SI LA ENCUENTRA SOLA O ES IGNORADA SI LA ENCUENTRA EN PRESENCIA DE UNA HOSPEDERA DE MAYOR PREFERENCIA	CASO III: ESPECIE DE PRUEBA DENTRO DEL RANGO DE HOSPEDERAS
PRUEBA SIN OPCIÓN (RESULTADO POSITIVO DESPUÉS DE ALGUNOS DÍAS DE HAMBRE)	CASO IV-B: LA ESPECIE DE PRUEBA ESTÁ FUERA DEL RANGO DE HOSPEDERAS, EL RESULTADO POSITIVO EN LA PRUEBA SIN ELECCIÓN ES DEBIDO AL HAMBRE, ES POSIBLE QUE BAJO CONDICIONES DE CAMPO PROMUEVA LA DISPERSIÓN Y NO LA ALIMENTACIÓN	

PREFERENCIA DE HOSPEDEROS

Los enemigos naturales, particularmente los parasitoides, frecuentemente cambian su grado de respuesta a un hospedero después del contacto inicial con la especie. El contacto con un hospedero conocido (p. ej., una especie normalmente atacada), aumenta la respuesta a esa especie en contactos subsiguientes. Las hembras con experiencia, típicamente responden más rápido y más fuerte al hospedero normal que los parasitoides sin experiencia (ver la revisión de Withers y Barton Browne, 2004). La experiencia con un hospedero puede venir del contacto previo con el olor de un hospedero conocido o del complejo hospedero – sustrato (planta). También puede ser causado por la experiencia obtenida del hospedero en la cría, particularmente si el parasitoide emerge de un cocón o del cadáver asociado al hospedero de cría. Con los hospederos que no están familiarizados (es decir,

nuevos), la experiencia también puede cambiar la respuesta, incrementando o disminuyendo la intensidad de la respuesta posterior. En una prueba del rango de hospederos, ambas influencias pueden operar y ser difíciles de distinguir pero, en general, el control para este problema es usar agentes sin experiencia en las pruebas. El hecho más restrictivo para evitarlo, en algunos casos es la inevitabilidad de algún contacto con el hospedero de cría en muchos sistemas. Si es la plaga a controlar, esto puede distorsionar las opciones a favor del hospedero de cría. Si un agente no puede ser criado excepto sobre la especie a controlar, el mejor enfoque es tratar de controlar (a través de la disección o la remoción de las pupas del ambiente de la cría) el contacto de los adultos nuevos con los hospederos (ver Monge y Cortesoro, 1996). Los efectos de la cría de los hospederos con experiencia de los estados inmaduros, parecen ser menores.

Para los insectos herbívoros, la preferencia hacia un hospedero con rango alto en una prueba de opción, puede causar que un hospedero de rango bajo no reciba oviposición o alimentación, haciendo parecer erróneamente que no es un hospedero.

CAMBIOS DEPENDIENTES DEL TIEMPO

La respuesta de los insectos hembra a las señales asociadas con los sitios de oviposición, cambia conforme pasa el tiempo desde el último contacto con el hospedero (Barton Browne y Withers, 2002). Conforme aumenta el período de carencia del hospedero para un agente, el insecto incrementa su posibilidad de aceptar especies hospederas menos preferidas para la alimentación o la oviposición. En las pruebas de alimentación, la falta del hospedero significa el aumento del hambre, frecuentemente con el resultado que los individuos con hambre se alimentan sobre hospederos que podrían ser ignorados por insectos con niveles más moderados de hambre. En las pruebas sin opción, por ejemplo, la duración de la prueba puede ser corta o larga y puede influir en los resultados. Para detectar tales efectos, una serie de observaciones diarias pueden ser de utilidad para ver si una especie de prueba es aceptada inmediatamente o solamente después de períodos prolongados.

Con respecto a la oviposición, la carencia del de hospedero tiene un efecto directo en la cantidad de huevecillos del insecto. Si los insectos empiezan la prueba con una cantidad alta de huevecillos, el paso del tiempo sin contacto con el hospedero usual puede simplemente incrementar la posibilidad de aceptación de otro hospedero menos conocido o menos preferido. Sin embargo, si la carga de huevecillos declina con el tiempo, debido a la reabsorción o el desperdicio de huevecillos (al ovipositar en lugares al azar), entonces la respuesta a la especie de prueba también puede declinar. Algunos agentes pueden ser disectados para observar directamente la cantidad de huevecillos y determinar si permanecen estables o decrecen durante un período sin hospedero.

ESTIMULACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

En algunos casos, si los insectos son expuestos simultáneamente a los hospederos normales y a los nuevos, los hospederos nuevos pueden recibir oviposiciones porque el contacto con el hospedero normal ha activado la conducta de oviposición. Por ejemplo, Field y Darby

(1991) encontraron que el parasitoide *Sphexophaga vesparum* (Curtis) (Ichneumonidae) ovipositó en las celdas de otra avispa (*Ropalidia plebeiana* Richards) cuando fueron colocadas artificialmente a diez centímetros de la cría de la avispa a controlar (*Vespula* spp.) pero ninguna cría de *R. plebeiana* fue atacada cuando se presentó sola en una prueba sin opción. Puede sospecharse la ocurrencia de tales eventos si el rango de hospederos aumenta en las pruebas de opción, comparado con las pruebas sin opción.

EFFECTOS DEL CONFINAMIENTO

Se acepta ampliamente que, para la mayoría de los insectos herbívoros (y probablemente para los depredadores y parasitoides también), una serie de conductas conduce a la localización y aceptación del hospedero por una hembra en búsqueda (Vet *et al.*, 1995). En la mayoría de las pruebas del rango de hospederos en laboratorio, el tamaño pequeño y la composición de las jaulas de prueba evitan al menos los primeros pasos de tales secuencias de conducta. Esto puede permitir que algunos hospederos sean atacados artificialmente en las pruebas de laboratorio si se saltan primero los pasos discriminatorios. La posibilidad e importancia de tales eventos deben ser consideradas sobre las bases de caso por caso y estarán influenciadas por la biología y el poder de dispersión del agente de control que está siendo estudiado.

EJEMPLOS DE LA ESTIMACIÓN DEL RANGO DE HOSPEDEROS

DÍPTEROS PARASITOIDES – MOSCAS FÓRIDAS QUE ATACAN HORMIGAS DE FUEGO

La hormiga de fuego roja importada (*Solenopsis invicta* Burden) invadió los Estados Unidos en los 1930s (Lennartz, 1973) y actualmente ocupa más de 300 millones de acres, desde Texas hasta Virginia (Callcott y Collins, 1996). Alcanza densidades de 1,800 a 3,500 hormigas/m² (Macom y Porter, 1996), causando un conjunto amplio de daños ecológicos y económicos, incluyendo el desplazamiento de las hormigas de fuego nativas. Un programa de control biológico clásico ha sido iniciado contra la plaga, basado en la observación de que en su rango nativo en Argentina, las densidades sólo son del 10 al 20% de las de los Estados Unidos (Porter *et al.*, 1997). Al menos 20 especies de moscas fóridas (Phoridae) atacan a esta plaga en su rango nativo pero están ausentes en los Estados Unidos. El rango de hospederos de algunos de esos fóridos (*Pseudacteon* spp.) fueron evaluados para apoyar su introducción a los Estados Unidos (Porter y Gilbert, 2004). Los insectos nativos más cercanamente relacionados a la plaga en los Estados Unidos son *Solenopsis geminata* (Fabricius) y *Solenopsis xyloni* (MacCook). Otras hormigas nativas de este género en los Estados Unidos ocurren en hábitats que son muy secos como para mantener a la hormiga de fuego invasora o son especies cuyo tamaño de la cabeza no es suficiente como para permitir el desarrollo de las moscas *Pseudacteon* que están siendo introducidas (sus larvas maduran en la cápsula cefálica del hospedero). Para ser potencialmente adecuadas como hospederas de estas moscas, las hormigas deben tener una anchura de la cabeza entre 0.4 y 1.6 mm.

La evaluación de la seguridad de los fóridos propuestos para introducción empezó con pruebas a campo abierto en Suramérica, donde se compararon las tasas de ataque sobre *S. invicta* con las tasas de ataque sobre hormigas de otros géneros y subfamilias (Porter *et al.*, 1995). Esto fue seguido por exposiciones en campo en Brasil de *S. invicta* vs *S. geminata*, donde ambas especies se presentan (Porter, 1998). Estas pruebas de campo confirmaron la literatura publicada existente de que las especies de *Pseudacteon* en estudio parasitan solamente a las especies de *Solenopsis* y que prefieren a *S. invicta* sobre *S. geminata*.

La siguiente fase estuvo basada en las evaluaciones de laboratorio efectuadas en cuarentena en los Estados Unidos. En pruebas sin opción, se compararon las tasas de las conductas de ataque y parasitismo sobre *S. invicta* vs. *S. geminata* y *S. xyloni*. Los resultados mostraron que *P. tricuspis* y *P. litoralis*, pocas veces se empeñaron en comportamientos de ataque contra estas hormigas de fuego nativas y nunca las parasitaron (Porter y Gilbert, 2004).

Las pruebas secuenciales con opción para *P. curvatus* y *P. obtusus* (Tabla 17-2), midieron la preferencia entre la plaga a controlar y las hormigas de fuego nativas porque ambas moscas atacaron algunas hormigas de fuego nativas en las pruebas sin opción. Para *P. curvatus*, 75-85% de las moscas hembra prefirieron a la hormiga de fuego importada sobre las hormigas de fuego nativas (Porter, 2000; Vázquez *et al.*, 2004). Cuando las moscas de *P. curvatus* se criaron en el laboratorio sobre *S. xyloni* retuvieron una fuerte preferencia por *S. invicta*. Similarmente, más del 95% de las moscas *P. obtusus* prefirieron a la especie inva-

Tabla 17-2. Resultados de pruebas secuenciales de opción (plaga, no plaga, plaga) para varias moscas fóridas que están siendo consideradas para su importación contra la hormiga de fuego importada (*Solenopsis invicta* Burden) en los Estados Unidos, en comparación con la especie nativa *Solenopsis geminata* (Fabricius). (Figura elaborada con datos de Gilbert y Morrison, 1997: *Environmental Entomology* 26: 1149-1154)

Pruebas secuenciales de opción con <i>Pseudacteon curvatus</i> y la hormiga de fuego nativa (<i>S. geminata</i>) vs la importada (<i>S. invicta</i>).			
Especies de mosca	No. de moscas atacantes y tasa de ataque por mosca		
	Tiempo 1 <i>S. invicta</i>	Tiempo 2 <i>S. geminata</i>	Tiempo 3 <i>S. invicta</i>
<i>P. litoralis</i>	23/23 2.33 ataques/mosca	2/23 0.34 ataques/mosca	20/21 1.11 ataques/mosca
<i>P. wasmanni</i>	18/18 3.21 ataques/mosca	2/18 3.1 ataques/mosca	8/13 3.0 ataques/mosca
<i>P. tricuspis</i>	25/25 1.91 ataques/mosca	1/25 0.04 ataques/mosca	15/21 1.17 ataques/mosca
<i>P. curvatus</i>	20/20 1.53 ataques/mosca	13/20 0.75 ataques/mosca	--

sora sobre la hormiga de fuego nativa. Estos datos indicaron que aún donde las hormigas plaga y las otras especies convivieran juntas, era probable solamente poco ataque sobre las hormigas de fuego nativas.

También se efectuaron pruebas para evaluar cualquier potencial de que *P. curvatus* llegase a convertirse en una especie molesta, revisando su atracción por objetos tales como la fruta madura, la carne cruda, la carroña o el estiércol. De más de 50 objetos probados, ninguno fue atractivo a ninguna especie de *Pseudacteon* (Porter y Gilbert, 2004).

Los estudios de campo post liberación con *P. tricuspis* (la primera especie a ser liberada) confirmaron la carencia de atracción de esta especie a los hormigueros de la hormiga de fuego nativa *S. geminata*, a las bandejas con obreras de *S. geminata*, o a cualquiera de otras 14 especies de hormigas de 12 géneros (Porter y Gilbert, 2004). En las pruebas de campo post-liberación con *P. curvatus* se encontró que unas pocas moscas fueron atraídas a *S. geminata*, pero no se observó oviposición y la atracción a *S. geminata* fue sólo de 1/20 de la tasa de atracción a *S. invicta*.

En resumen, se predijo que este grupo de parasitoides, con base en las pruebas de campo en el rango nativo de distribución y a las pruebas de laboratorio en cuarentena, atacaría solamente a especies de *Solenopsis* y mostraría una preferencia casi completa por la hormiga de fuego invasora, al ser comparada con las especies nativas del mismo género. Estas predicciones fueron verificadas posteriormente por las pruebas de campo después de la liberación.

HIMENÓPTEROS PARASITOIDES DEL PIOJO HARINOSO ROSADO DEL HIBISCO

Después de la invasión en el Caribe del piojo harinoso rosado del hibisco, *Maconellicoccus hirsutus* (Green) en 1992, un programa de control biológico clásico fue organizado en la región por CABI-BioScience. El proyecto proponía introducir al encírtido *Anagyrus kamali* Moursi, el cual había controlado previamente al piojo harinoso en Egipto (Kamal, 1951). Esta especie es un endoparásitoide primario, solitario, de los piojos harinosos de cuatro géneros (*Pseudococcus*, *Ferrisia*, *Nipaecoccus* y *Planococcoides*) (Cross y Noyes, 1995). También mata a los piojos harinosos por su alimentación en el hospedero. Las especies de los Anagyrini (la tribu a la que pertenece *A. kamali*) generalmente atacan una o unas pocas especies de piojos harinosos cercanamente relacionadas (Cross y Noyes, 1995).

Para evaluar la amplitud del rango de hospederos de este parasitoide, Sagarra *et al.* (2001) examinaron la conveniencia de otras ocho especies de piojos harinosos comunes en el Caribe (específicamente en Trinidad), en pruebas de opción y sin opción. Las especies en la prueba fueron *Planococcus citri* (Risso), *Planococcus halli* Ezzat & McConnel, *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell), *Pseudococcus elisae* Borchsenius, *Saccharococcus sacchari* (Cockerell), *Puto barberii* (Cockerell), *Nipaecoccus nipae* (Newstead) y *Plotococcus neotropicus* (Williams & Granara de Willink). De éstas, el parasitoide fue probado en tres especies (*P. citri*, *P. halli* y *P. elisae*), pero puso huevos solamente en *P. citri* y *P. halli*. En las pruebas sin opción, 24% y 18% de los individuos de dichas especies fueron atacados, comparados con la plaga. Los estados inmaduros de los parasitoides, sin embargo, no

podieron madurar en estos otros hospederos. Por tanto, de los nueve piojos harinosos considerados, sólo la plaga a controlar fue un hospedero real de *A. kamali*, el cual fue liberado y controló a la plaga en toda la región.

ESCARABAJOS DE PREDADORES DERODÓNTIDOS QUE SE ALIMENTAN DEL ADÉLGIDO LANUDO DEL FALSO ABETO

El adélgado lanudo del falso abeto, *Adelges tsugae* Annand, es una plaga invasora seria del cicuta oriental, *Tsuga canadensis* (L.) Carrière y del cicuta de Carolina *Tsuga caroliniana* Engelm (McClure, 1991), para el cual se efectuó un programa de control biológico porque los enemigos naturales locales no evitaban la mortalidad de los árboles. Una investigación de los depredadores especializados fue llevada a cabo ya que los adélgidos carecían de parasitoides. *Laricobius* spp. (Derodontidae) son insectos especializados en adélgidos (Lawrence, 1989). *Laricobius nigrinus* Fender, especie nativa del oeste de los Estados Unidos, donde está asociada con *A. tsugae* (L. M. Humble, Can. Forest Service, datos no publicados), fue trasladada y su rango de presas evaluado. La conveniencia de seis especies como presas potenciales fue examinada, en comparación con la plaga clave (Zilahi-Balogh *et al.*, 2002). La lista de prueba consistió de dos especies del mismo género *Adelges piceae* (Ratzeburg), *Adelges abietis* (L.) y de otro adélgado, *Pineus strobi* (Hartig), los cuales se alimentan de coníferas. Las presas potenciales menos similares ofrecidas fueron dos áfidos, *Cinara pilicornis* (Hartig) y *Myzus persicae* (Sulzer) y una escama armada, *Chionaspis pinifoliae* (Fitch). De los dos áfidos, *C. pilicornis* se alimenta en coníferas mientras que *M. persicae* no lo hace. Las escamas armadas ofrecidas se alimentan de pinos.

En las pruebas sin opción (Tabla 17-3), *L. nigrinus* coloca huevos en asociación con todas las especies de prueba ofrecidas, excepto en la escama armada *C. pinifoliae*. En las pruebas de opción, la oviposición fue observada sólo cerca de las otras tres especies de adélgidos. En un experimento más largo (3 días), *L. nigrinus* colocó 51% más huevos en *A. abietis*, 43% en *P. strobi*, y 14% en *A. piceae* que en la plaga. En la plaga, 17% de los huevecillos colocados sobrevivieron para producir escarabajos adultos, pero ninguno maduró exitosamente en ninguna de las otras especies de prueba (Tabla 17-4). En resumen, el depredador *L. nigrinus* es específico de la plaga, al considerar las especies probadas. Aunque algunos huevecillos fueron depositados cerca de otras especies presa, estos no sobrevivieron.

Tabla 17-3. Oviposición de *Laricobius nigrinus* Fender sobre varias presas potenciales (adélgidos, áfidos y escamas) en condiciones de pruebas de opción y sin opción, en comparación con la oviposición en la plaga, *Adelges tsugae* Annand. (Tabla elaborada con datos de Zilahi-Balogh et al., 2002: *Biological Control* 24: 192-198).

Oviposición de <i>Laricobius nigrinus</i> (# huevecillos por hembra en 3 días)			
Especies de prueba	Prueba sin opción	Prueba de opción en la plaga	Prueba de opción en otras especies
Plaga (<i>A.t</i>)	12.2		
<i>A. abietis</i>	0.7	7.6	0.4
<i>A. piceae</i>	3.1	10.1	1.8
<i>P. strobi</i>	7.9	12.3	2.3
<i>C. pilicornis</i>	0.2	12.4	0
<i>M. persicae</i>	0.0	9.8	0
<i>C. pinifoliae</i>	0.1	17.5	0

Tabla 17-4. Desarrollo y sobrevivencia de los estados inmaduros de *Laricobius nigrinus* Fender en varios Hemiptera ofrecidos como presas, en comparación con la plaga, *Adelges tsugae* Annand. (Tabla elaborada con datos de Zilahi-Balogh et al., 2002: *Biological Control* 24: 192-198).

Sobrevivencia de los estados vitales de <i>Laricobius nigrinus</i> en una presa seleccionada			
Especies de prueba	Alcanzaron el cuarto estadio larval	Puparon	Emergieron como adultos
Plaga (<i>A.t</i>)	58%	19%	17%
<i>A. piceae</i>	11%	0%	0%
<i>P. strobi</i>	7%	0%	0%
<i>A. abietis</i>	0%	0%	0%
<i>C. pilicornis</i>	0%	0%	0%
<i>C. pinifoliae</i>	0%	0%	0%

COCCINÉLIDOS DEPREDAADORES Y LA ESCAMA ACOJINADA ALGODONOSA EN LAS ISLAS GALÁPAGOS

La escama acojinada algodonosa (*Icerya purchasi* Maskell) es un margaródido polífago que (Hale, 1970) ha invadido 15 de las Islas Galápagos (Causton, 2004), donde causa daño a 62 plantas nativas o endémicas, de las cuales seis están en peligro. La entidad de autoridad del parque comisionó un estudio de la propuesta de introducción del coccinérido especializado *Rodolia cardinalis* Mulsant para suprimir al invasor. Se cree que esta mariquita es nativa de Australia y ha sido liberada en más de 60 países para el control de la escama acojinada algodonosa, donde frecuentemente ha logrado un control eficiente.

Para evaluar los riesgos potenciales de este depredador para los insectos de las Galápagos, se investigó el rango de hospederos de *R. cardinales*, en relación con los insectos de las Galápagos. Se evaluaron los rangos de hospederos, tanto de adultos como de larvas. Ya que los insectos de prueba deseados frecuentemente requerían de plantas endémicas de islas específicas, fue construido un laboratorio de cuarentena para llevar a cabo el estudio. Además, una vez que la mayoría de los insectos prueba no pudieron ser criados, fueron colectados en campo. Esto presentó una complicación ya que, en algunos casos, los individuos probados posteriormente fueron encontrados parasitados y los resultados de la prueba fueron descartados. Finalmente, por las condiciones de sequía, algunas especies de prueba deseadas no pudieron ser localizadas en números adecuados. Como sustituto, en algunos casos, fueron usados insectos invasores que pertenecen a importantes grupos de prueba (familias). La lista de prueba final incluía al margaródido nativo solamente de Galápagos (*Margarodes similis* Morrison), así como también cualquier especie enlistada en la literatura como presa de cualquier especie de *Rodolia* (o si no estaba disponible, de especies relacionadas) y cualquier especie de las Galápagos que fuera morfológicamente similar a *I. purchasi* o que fuera capaz de vivir en la proximidad de *R. cardinalis*.

Veinte registros de presas específicas para *R. cardinalis* fueron localizados, lo cual sugiere que el rango de presas incluía a los Margarodidae, Pseudococcidae, Diaspididae, Dactylopiidae y quizás Aphididae. Dada esta amplitud, 14 Coccoidea y tres áfidos de las Galápagos fueron considerados como presas potenciales. Además, algunos depredadores nativos fueron incluidos para buscar si había depredación intragremial. Las pruebas con larvas de *R. cardinalis* fueron conducidas con 16 especies de nueve familias. La alimentación ocurrió solamente en el margaródido nativo, *M. similis*, y solamente después de que emergiera de su quiste de cera protectora. La larva, sin embargo, no pudo completar el desarrollo en esta presa, muriendo en una semana. En todas las demás presas, las larvas murieron en 1 o 2 días.

Se probaron adultos de *R. cardinales*, usando individuos con o sin experiencia de alimentación anterior sobre la plaga. Seis especies (de cinco familias) fueron probadas con escarabajos sin experiencia y ocho especies (de seis familias) con escarabajos acondicionados. Tanto los escarabajos acondicionados como los que no tenían experiencia, se alimentaron sobre los *M. similis* que habían emergido de los quistes. Sin embargo, los escarabajos adultos de *R. cardinalis* no fueron capaces de romper los quistes cerosos de *M. similis* y no cavaron en el suelo, donde vive este margaródido que se alimenta de raíces. Ninguna alimentación fue observada, directa o indirectamente, sobre las otras especies. Ninguna

especie de prueba, incluyendo *M. similis*, estimuló la oviposición de *R. cardinalis*. Con la excepción de dos piojos harinosos, el tiempo de sobrevivencia del adulto de *R. cardinalis* no fue mayor sobre este otro margaródido que en agua sola.

En resumen, se concluyó que esta especie no era una amenaza para los insectos nativos del parque y fue liberada. Las evaluaciones de su impacto sobre la escama acojinada algodonosa y la recuperación de las plantas nativas afectados todavía no ha ocurrido.

INSECTOS HERBÍVOROS – UN INSECTO DE LAS AGALLAS DE LA MELALEUCA

De las muchas agallas sobre *M. quinquenervia* en Australia, un tipo es causado por la invasión del ápice del tallo por una mosca específica del hospedero (*Fergusonina turneri* Taylor; Diptera: Fergusoninidae) y un nemátodo mutualista (*Fergusobia quinquenerviae* Davies & Giblin-Davis). Los nemátodos son llevados por las moscas hembra y son depositados simultáneamente con los huevos de las moscas en las yemas susceptibles. Los nemátodos inmediatamente empiezan a inducir la formación de agallas mientras que la eclosión de las larvas de las moscas es retrasada. El tejido nutritivo de las agallas es aprovechado por las larvas en el tiempo en que eclosionan los huevecillos de las moscas, y la alimentación por las larvas de las moscas aumenta el desarrollo de las agallas.

Los estudios moleculares han demostrado que estos organismos se han especializado dentro de las Myrtaceae y que cada par de especies han evolucionado en una dependencia cercana, una sobre otra, y en una sola especie de planta hospedera (Davies y Giblin-Davis, 2004; Giblin-Davis *et al.*, 2003; Scheffer *et al.* 2004; Taylor, 2004). Por tanto, esta combinación mutualista parece ideal para el control biológico de *M. quinquenervia* ya que como la formación de agallas en las puntas de los tallos detiene el crecimiento indeterminado del ápice del tallo, entonces evita la producción de flores y de semillas en los ejes afectados. Esto podría reducir posiblemente el enorme potencial de regeneración de *M. quinquenervia*, el cual es responsable de su éxito como maleza invasora.

La estrategia de prueba para estos dos agentes, involucró determinar si *F. turneri* podría o no (a) depositar huevecillos y nemátodos en las yemas de las plantas prueba, o si intentaría hacerlo, (b) escoger las yemas de otras especies vegetales, cuando las yemas de melaleuca no estuvieran disponibles, o (c) completar su desarrollo sobre otras especies. Las pruebas se enfocaron en la oviposición, la cual es el estado crítico para la selección de hospederos de estas especies. El estado susceptible del desarrollo de yemas fue determinado y las plantas de prueba fueron podadas para inducir la formación de yemas. Las moscas fueron colocadas en jaulas sobre los tallos cuando las yemas alcanzaron el estado apropiado. Algunos tipos de pruebas fueron realizados: (a) pruebas de oviposición sin opción en tallos cortados, (b) pruebas de oviposición de opción múltiple con y sin melaleuca, usando tallos cortados, (c) pruebas de oviposición de dos y cuatro opciones en cortes, (d) pruebas de desarrollo sin opción en plantas completas y en ramas de plantas en macetas, y (e) pruebas de desarrollo de dos opciones con plantas en macetas. Ocho especies de mirtáceas nativas que son ornamentales cercanamente relacionadas, fueron probadas en la Florida bajo condiciones de cuarentena. Además, unas pocas especies no relacionadas fueron probadas principalmente para oviposición, el cual es el estado crítico en la selección de hospederos. Las agallas fueron producidas solamente en *M. quinquenervia*.

nervia como se pronostico en los estudios de campo, por lo que el permiso para la liberación fue solicitado y aprobado.

ÁCAROS HERBÍVOROS EN EL HELECHO TREPADOR DEL VIEJO MUNDO

El helecho trepador del Viejo Mundo (*Lygodium microphyllum*) es un invasor perjudicial en el Parque Nacional de los Everglades en la Florida (Estados Unidos), el cual tiene el potencial de afectar drásticamente este crítico ecosistema. Es particularmente dañino para los manglares de las islas, los cuales alojan a la mayoría de la biodiversidad de la región. Muchos de los árboles de las islas están ahora densamente cubiertos con esta planta desenfrenada, lo cual ha resultado en cambios drásticos en la estructura y en la composición de las comunidades naturales. *L. microphyllum* ocupa un amplio rango a través de los trópicos del Viejo Mundo. Uno de los agentes de control biológico potenciales de interés es el ácaro eriofido *F. perrepae*, el cual se alimenta sobre las hojillas del helecho, causando que las orillas se enrollen y se desarrollen agallas. El ácaro aparentemente ha desarrollado linajes locales, tanto que ha llegado a ser importante para identificar el origen de la planta en la Florida como para estudiar la raza correcta del ácaro. A través del análisis de ADN, se descubrió que la población en la Florida probablemente se originó en el norte de Queensland o en Papúa Nueva Guinea (Goolsby *et al.*, 2006b). Los ácaros colectados en la Península de Cape York se desarrollaron bien sobre el material vegetal de la Florida mientras que se desarrollaron pobremente sobre helechos del sur de Queensland, y vice-versa (Goolsby *et al.*, 2006b).

Las pruebas de hospederos de *F. perrepae* enfatizaron sobre las especies de *Lygodium* de Norteamérica y los neotrópicos, así como las especies nativas de helechos del sureste de los Estados Unidos. El ácaro es un organismo diminuto, de cuerpo suave, que fue tan difícil de manejar que Goolsby y sus colegas (Goolsby *et al.*, 2004b, 2005b,c) desarrollaron un sistema único para determinar el rango de hospederos. Las esporas fueron germinadas y los helechos esporuladores fueron colocados en pequeñas macetas de tamaño de un dedal. Diez ácaros fueron transferidos cuidadosamente a una hojilla esporuladora individual, usando una sola pestaña. El tejido joven esporulador fue óptimo para el desarrollo del enrollamiento de las hojas, por lo que fueron usadas para la selección inicial sin opción. *Floracarus perrepae* se desarrolló normalmente en el genotipo de la Florida de *L. microphyllum*. También hubo un modesto desarrollo en *Lygodium palmatum* (Bernhardi) Swartz, nativo de Norteamérica. Sin embargo, las pruebas de temperatura mínima letal y del estrés al frío, revelaron que el ácaro probablemente podría no establecerse en áreas más al norte, donde se encontró a *L. palmatum*. Hubo también un desarrollo menor en otras seis especies de helechos pero el enrollamiento de las hojas fue inducido sólo en las especies de *Lygodium*, con un enrollamiento completo común sólo en *L. microphyllum*. Estas otras seis especies que exhibían desarrollo como esporuladoras fueron probadas de nuevo como plantas maduras. *Floracarus perrepae* se desarrolló sólo sobre *L. microphyllum*, en ambas pruebas de opción y sin opción con estas plantas. Goolsby *et al.* (2004b, 2005b, c) concluyeron que *F. perrepae* era específica de *L. microphyllum* y que sería poco o ningún riesgo para los helechos nativos o cultivados en Norteamérica y Suramérica. Esta especie ahora ha sido aprobada para liberarse en los Estados Unidos.

EVALUACIÓN DE RIESGOS

La conclusión de una evaluación del rango de hospederos de un nuevo agente y de cualquier efecto indirecto que podría ser evidente es conducir una evaluación del riesgo concerniente a los costos potenciales y a los beneficios de su liberación en un país o región receptora en particular, siendo guiada por una conducta ética (Delfosse, 2005). Un resultado podría ser rechazar inmediatamente las liberaciones del agente, basándose en un rango de hospederos obviamente muy amplio o en tasas de ataque significativas sobre especies de prueba valiosas (e.g., Cristofaro *et al.*, 1998; Heard *et al.*, 1998; Haye *et al.*, 2006). Salvo esto, deben ser comparadas las ganancias y las pérdidas asociadas con la acción.

La evaluación del riesgo (ver Wan y Harris, 1997; Andersen *et al.*, 2005; Dhileepan *et al.*, 2005; Wright *et al.*, 2005; van Lenteren y Loomans, 2006; y Bigler y Kölliker-Ott, 2006 para ejemplos y principios) empieza por identificar cualquier riesgo implícito en los datos de prueba, tomando en cuenta cualquier factor mitigante de la geografía, clima u otro aspecto que podría actuar para cambiar los riesgos en el campo. Este riesgo podría entonces ser balanceado contra el daño actual causado por la especie invasora y proyectado hacia el futuro por cualquier dispersión o impacto sinérgico o acumulativo. Los riesgos relativos de estos dos eventos son comparados para determinar si las liberaciones pudiesen posiblemente ser un mejoramiento neto del bien público, tanto en términos de resultados económicos como ecológicos. Este proceso debe determinar quien se beneficia y quien se afecta y si cualquier riesgo es inaceptable. En general, los riesgos de los agentes de control biológico deberían ser juzgados por estándares similares aplicados a otras categorías de introducciones de especies exóticas.