



UNIVERSIDAD DEL AZUAY

FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Escuela de Biología del Medio Ambiente

Simulación herbívora para un potencial agente defoliador de  
*Rubus niveus* en las Islas Galápagos.

Trabajo de graduación, previo a la obtención del título de Biólogo  
del Medio Ambiente

**Autor:**

Claudio Fernando Crespo Ramírez

**Director:**

Walter Iván Larriva Coronel

**Supervisor científico:**

Mark Raymond Gardener Westbrook

Cuenca – Ecuador

2012

## **DEDICATORIA**

A mis padres, hermana y abuelos.

## AGRADECIMIENTOS

A mi familia por su incondicional apoyo, en especial a mi madre quien con paciencia, comprensión, sacrificio, y mucho amor me ha permitido continuar el rumbo de mis sueños. A mis abuelos por su total apoyo, en cada momento de mi vida.

Agradezco a Boston Environment, por financiar la presente investigación; a la Fundación Charles Darwin, por aprobar el presente estudio y brindar el apoyo logístico necesario; y, a la Universidad del Azuay, por ofrecerme una formación académica de calidad y por la aprobación del presente trabajo de tesis.

Especial agradecimiento a: Mark Gardener por su cordialidad, compromiso, constancia y sacrificio; a Walter Larriva por su confianza, compromiso y esfuerzo; a Rachel Atkinson por encaminarme en la presente investigación; a Jorge Luis Rentería por sus sugerencias y comentarios; a Volker Koch por su gentileza demostrada en el desarrollo de los análisis estadísticos; a Mandy Trueman por su amabilidad en la búsqueda bibliográfica; y, a Bernard Landry por asistirme en la identificación de los insectos. Además, un agradecimiento a la familia Carrión por permitirme realizar parte del presente estudio en un área de su finca, en especial a Alonso Carrión y a su querida madre.

Finalmente, un agradecimiento muy sincero a quienes me brindaron su cordial amistad y colaboración incondicional en el establecimiento, mantención y colecta de los datos para los ensayos realizados, en especial a: Grace Balladares, Joel Zavala, Oscar Alay, Marco Rodríguez, Josselin Guyot, Carito Zabala, Lotta Kluger, Soledad Sarzosa, Jonathan Barreto, Erika Loor, Keylla López, Denise Barrera, Rosita Calderón, Alessandra Bravo, Liz Vervloet, Kelsey Bradley, Crisler Aguilar, Lena Heel, Jorge Vera y los meteorólogos de la FAE.

Las multiétnicas Islas Galápagos dejaron en la memoria recuerdos de hombres y mujeres que siempre les estaré agradecido. La ayuda brindada en el trabajo de campo o de “escritorio” aportó, en mucho, en la elaboración del presente trabajo de investigación y, además, el apoyo moral recibido de quienes me rodearon, en momentos difíciles, fue gratificante.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4

### CAPÍTULO 1. FLORA DE GALÁPAGOS

1.1 Plantas endémicas.....	5
1.2 Plantas introducidas.....	6
1.3 Amenazas de la flora.....	7
1.3.1 Antecedentes.....	7
1.3.2 El ser humano.....	7
1.3.3 Animales.....	8
1.3.4 Plantas.....	8
1.4 Acciones contra las especies introducidas.....	9

### CAPÍTULO 2. *RUBUS NIVEUS* THUNB

2.1 Taxonomía.....	11
2.2 Distribución en su rango nativo e introducido.....	12
2.3 Introducción a las Islas Galápagos.....	12
2.4 Distribución en Ecuador continental y Galápagos.....	13
2.5 Reproducción.....	13
2.6 Dispersión.....	14
2.7 Impacto sobre comunidades nativas.....	14
2.8 Control químico y manual.....	15
2.9 Costo del Control.....	15

### CAPÍTULO 3. CONTROL BIOLÓGICO

3.1 Historia.....	17
3.2 Desarrollo de conceptos.....	18
3.3 Enemigos naturales.....	18
3.3.1 Agentes de control para malezas.....	19
3.4 Ventajas y desventajas.....	20
3.5 Éxitos y fracasos.....	20
3.6 Riesgos.....	22
3.7 Pasos para implementar el Control Biológico Clásico.....	24

3.7.1 Definir las metas.....	25
3.7.2 Estudiar la especie en el rango introducido .....	25
3.7.3 Exploración de agentes en el rango nativo .....	26
3.7.4 Análisis de riesgo del agente seleccionado .....	26
3.7.5 Importación y cuarentena.....	27
3.7.6 Liberación y evaluación del agente en el campo .....	28

## **CAPÍTULO 4. SIMULACIÓN DE HERBIVORÍA**

4.1 Un cambio de mentalidad.....	29
4.2 El modelo predictivo .....	30
4.3 Utilidad de la simulación de herbivoría .....	31
4.4 Tolerancia al ataque.....	31
4.4.1 Conceptos.....	32
4.5 Ventajas.....	32
4.6 Desventajas .....	33
4.6.1 Interacciones bióticas simples .....	33
4.6.2 Interacciones bióticas complejas .....	34

## **CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA**

5.1 Sitios de estudio.....	37
5.2 Ensayo 1 .....	37
5.2.1 Recolección y establecimiento de plántulas en parcelas .....	37
5.2.2 Proceso para la defoliación artificial .....	38
5.2.3 Cosecha.....	39
5.2.4 Secado y pesado.....	40
5.3 Ensayo 2.....	40
5.3.1 Recolección y establecimiento de plántulas en parcela .....	40
5.3.2 Proceso para la defoliación artificial .....	42
5.3.3 Cosecha.....	42
5.3.4 Secado y pesado.....	44
5.4 Ensayo 3.....	45
5.4.1 Búsqueda de <i>R. niveus</i> .....	45
5.4.2 Establecimiento de la parcela.....	45
5.4.3 Proceso para la defoliación artificial .....	46
5.4.4 Cosecha.....	46
5.5 Análisis de datos .....	47

## **CAPÍTULO 6. RESULTADOS**

6.1 Ensayo 1 .....	49
6.1.1 Longitud máxima, número de tallos y hojas.....	49
6.1.2 Número de flores.....	50
6.1.3 Biomasa de raíz, tallos y hojas .....	51
6.2 Ensayo 2.....	54
6.2.1 Longitud máxima, número de tallos y hojas.....	54
6.2.2 Número de flores.....	55
6.2.3 Biomasa de tallos y hojas.....	56
6.2.4 Biomasa de flores y frutos .....	57
6.3 Ensayo 3.....	60

6.3.1 Longitud máxima, número de tallos y hojas.....	60
6.3.2 Biomasa de tallos y hojas.....	61

## **CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN**

7.1 Limitaciones del estudio .....	64
7.2 Umbral y compensación por el daño infringido.....	65
7.3 Tolerancia y compensación por <i>R. niveus</i> .....	66
7.4 Interacciones bióticas y abióticas .....	68
7.5 Implicaciones para el biocontrol de <i>R. niveus</i> .....	68
CONCLUSIONES .....	71
RECOMENDACIONES .....	72
BIBLIOGRAFÍA .....	73
ANEXOS.....	79

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 1. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento y reproducción como las variables dependientes.....	53
<b>Tabla 2.</b> Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 1. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) como factor y los parámetros de crecimiento como las variables dependientes.....	53
<b>Tabla 3.</b> Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 2. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento y reproducción las variables dependientes. ....	59
<b>Tabla 4.</b> Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 2. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento y reproducción las variables dependientes. ....	59
<b>Tabla 5.</b> Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 3. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento producción como las variables dependientes. ....	63
<b>Tabla 6.</b> Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 3. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de producción como las variables dependientes. ....	63

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Porcentajes del número total de las plantas involucradas en los taxones presentes en Galápagos.....	5
<b>Figura 2.</b> Número de especies introducidas registras por los estudios de Wiggins & Porter 1971; Porter 1983, Lawesson et al, 1987; Mauchmap 1997 y la base de datos de la Fundación Charles Darwin 2001 y 2011.....	6
<b>Figura 3.</b> <i>Rubus niveus</i> Thunb. (Miquel, 1855).....	11
<b>Figura 4.</b> Principales etapas de un programa de control biológico con escala en años (FCD & DPNG, 2009a).....	24
<b>Figura 5.</b> Plántulas de <i>R. niveus</i> establecidas en umbráculo. ....	38
<b>Figura 6.</b> Plántulas de <i>R. niveus</i> con primer evento de defoliación artificial.....	38
<b>Figura 7.</b> Plantas adultas de <i>R. niveus</i> de alrededor de 11 meses vida y detalle de la flor.....	39
<b>Figura 8.</b> Plántulas de <i>R. niveus</i> sembradas en fundas de polietileno e irrigadas hasta su establecimiento en la parcela experimental .....	40
<b>Figura 9.</b> Plántulas de <i>R. niveus</i> establecidas en un área del vivero de la FCD. ....	41
<b>Figura 10.</b> Plantas adultas de <i>R. niveus</i> de alrededor de 10 meses de vida y detalle del fruto.....	42
<b>Figura 11.</b> Extracción de una planta adulta de <i>R. niveus</i> en la parcela de Bellavista.....	43
<b>Figura 12.</b> Finalizando la cosecha de una planta de <i>R. niveus</i> sobre la mesa de “seccionado” .....	43
<b>Figura 13.</b> Secadora botánica con muestras de <i>R. niveus</i> .....	44
<b>Figura 14.</b> Obteniendo la biomasa de las hojas secas de <i>R. niveus</i> en una balanza analítica .....	44
<b>Figura 15.</b> Mancha de <i>R. niveus</i> encontrada en un área combinada de <i>P. conjugatum</i> y <i>C. odorata</i> de una finca agrícola-ganadera en el sector de “El Occidente” .....	45
<b>Figura 16.</b> Plántulas de <i>R. niveus</i> de alrededor de 5 meses de vida seleccionadas de una mancha en el sector de “El Occidente” .....	46
<b>Figura 17.</b> Mortalidad de plantas de <i>R. niveus</i> sobre los tres ensayos experimentales de simulación de herbivoría. ....	48
<b>Figura 18.</b> Efecto de la simulación de herbivoría sobre la longitud máxima, número de tallos y hojas de <i>R. niveus</i> . Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con log10+1. ....	50
<b>Figura 19.</b> Efecto de la simulación de herbivoría sobre el número de flores producidas por <i>R. niveus</i> . Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con log10+1. ....	50
<b>Figura 20.</b> Efecto de la simulación de herbivoría sobre la biomasa de raíz, tallos, hojas y biomasa total de <i>R. niveus</i> . Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con log10+1.....	52
<b>Figura 21.</b> Efecto de la simulación de herbivoría sobre la longitud máxima, número de tallos y hojas de <i>R. niveus</i> . Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de	

- defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ . .....55
- Figura 22.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre el número de flores producidas por *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ . .....55
- Figura 23.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la inversión de biomasa de los tallos, hojas y biomasa total de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ . .....57
- Figura 24.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la inversión de la biomasa de flores y frutos de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ . .....58
- Figura 25.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la longitud máxima, número de tallos y hojas de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ . .....61
- Figura 26.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la biomasa de tallos, hojas y total de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ . .....62

## ÍNDICE DE ANEXOS

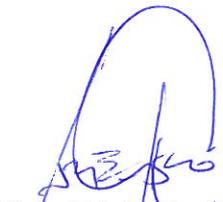
<b>Anexo 1.</b> Posible presencia de hongo causante de la muerte de plantas de <i>R. niveus</i> en Bellavista. Se observa que la pudrición del tejido empieza desde el ápice de la planta. ....	80
<b>Anexo 2.</b> Especie de larva de Lepidóptero perteneciente a la familia Noctuidae posiblemente del genero Tortricidae o Pyralidae sobre una planta de <i>R. niveus</i> en Bellavista. ....	80
<b>Anexo 3.</b> Especie de larva de Lepidóptero posiblemente de la familia Torttrricidae o Pyralidae sobre una hojuela de <i>R. niveus</i> y detalle de la larva en Bellavista. ....	81
<b>Anexo 4.</b> Larva de Lepidóptero perteneciente a la familia Noctuidae sobre <i>R. niveus</i> y detalle de la hoja que fue afectada por esta larva en el sector de “El Occidente”. ....	81
<b>Anexo 5.</b> Especie de larva de Lepidóptero posiblemente perteneciente a la familia Noctuidae sobre hojuela de <i>R. niveus</i> en el sector de “El Occidente”.....	82
<b>Anexo 6.</b> Especie de insecto perteneciente a la familia Geometridae sobre de <i>R. niveus</i> en el sector de “El Occidente”. ....	82
<b>Anexo 7.</b> Especie de Coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae sobre <i>R. niveus</i> en el sector de “El Occidente”. ....	83
<b>Anexo 8.</b> Especie de Coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae sobre <i>R. niveus</i> en el sector de “El Occidente”. ....	83

8  
040612

## RESUMEN

La simulación de herbivoría permite obtener un criterio preliminar para la selección de agentes eficaces para los programas de control biológico de malezas. Este estudio examina el efecto de la simulación de herbivoría, mediante diversos niveles de defoliación artificial (0-100%), sobre el crecimiento y reproducción de *Rubus niveus* Thunb. Estos niveles o tratamientos se desarrollaron para tres ensayos: bajo condiciones controladas, condiciones semi-controladas y condiciones naturales. Mientras que, las respuestas de las plantas a los tratamientos mostraron diferencias y semejanzas entre los tres ensayos, de manera general, se evidenció que el efecto de las defoliaciones artificiales afectó proporcionalmente al desarrollo de las plantas. Los niveles de defoliación del 50% o más podrían ser considerados como un umbral de daño para la selección de agentes de control biológico potenciales, con el objetivo del control de *R. niveus*. Los resultados de este estudio deben ser comparados con estudios de herbivoría natural.

**Palabras claves:** simulación de herbivoría, programa de control biológico de malezas, *Rubus niveus* Thunb., umbral de daño, agentes de control biológico, herbivoría natural.



Blgo. Edwin Zarate



M.Sc. Walter Larriva



Sr. Claudio Crespo

8  
Revised 1  
04/06/12

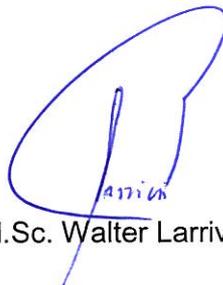
## ABSTRACT

Simulated herbivory can be used to obtain a preliminary criterion for the selection of effective agents for the biological weed control programs. This study examines the simulated effect of herbivory, by means of diverse levels of artificial defoliation (0-100%) on the growth and reproduction of *Rubus niveus* Thunb. These levels or treatments were developed for three tests: under controlled conditions, semi-controlled conditions and natural conditions. The plants response to the treatments showed both differences and similarities between the trials, it was evident that artificial defoliation proportionally affected the plants development. Defoliation of 50% or more could be considered as an impact threshold when selecting potential biological control agents to control *R. niveus*. The results of this study must be compared with natural herbivory studies.

**Key words:** simulated herbivory, biological weed control programs, *Rubus niveus* Thunb., impact threshold, biological control agents, natural herbivory.



Ph.D. Maria Elena Cazar



M.Sc. Walter Larriva



Sr. Claudio Crespo

Claudio Fernando Crespo Ramírez  
Trabajo de graduación  
M.Sc. Walter Larriva Coronel  
Junio 2012

## **Simulación herbívora para un potencial agente defoliador de *Rubus niveus* en las Islas Galápagos.**

### **INTRODUCCIÓN**

Las plantas introducidas en las Islas Galápagos están consideradas como una de las más altas amenazas a su biodiversidad, especialmente en las islas habitadas. Actualmente, cuatro islas mayores están habitadas y el número de plantas introducidas ha aumentado notablemente, registrándose un total de 891 especies (FCD & DPNG, 2009; Fundación Charles Darwin, 2011a). Estos problemas de especies de plantas introducidas se localizan en las zonas altas y húmedas de las islas habitadas (Soria, Gardener, & Tye, 2002). Pero muchas de ellas, aún se conservan sin presentar evidencia de invasión (Fundación Charles Darwin, 2011a).

Las especies introducidas pueden ser divididas en varias categorías, dependiendo de su nivel de impacto: no naturalizada, naturalizada, invasora y transformadora (Pysek, Richardson, Rejmánek, Webster, Williamson, & Kirschner, 2004). En las islas Galápagos, las especies *Psidium guajava* L., *Cinchona pubescens* Vahl. y *Rubus niveus* Thunb. son consideradas especies invasoras y transformadoras, las cuales poseen buena dispersión, capacidad de competir y pueden remplazar vegetación nativa y, hasta, cambiar el ecosistema (Lawesson & Ortiz, 1994). En consecuencia, alrededor del 60% de las plantas endémicas que se encuentran bajo diferentes niveles de amenaza en Galápagos, son afectadas por plantas invasoras (Tye, 2007).

Generalmente, el manejo de especies introducidas dispone de acciones, tales como: la prevención, control, erradicación y restauración (FCD y DPNG, 2009). Lastimosamente, la erradicación como estrategia tuvo éxito limitado; solamente cuatro especies de plantas introducidas lograron ser erradicadas, puesto que se encontraban en una sola localidad; su distribución era menos de 1 ha y no tenía un banco de semillas persistente (Gardener et al, 2010). Erradicar plantas con características invasoras hace que su control sea difícil, casi imposible y muy costoso (Buddenhagen, 2006).

La especie *R. niveus* está considerada como una de las peores amenazas para la flora y fauna nativas de Galápagos que fue introducida, por primera vez, desde Ambato a Santa Cruz por su valor frutícola, a finales de 1960s. Hoy, se encuentra en las islas San Cristóbal, Isabela, Floreana y Santiago, donde su distribución parece estar restringida a las zonas húmeda y muy húmeda (FCD & DPNG, 2009). Los esfuerzos de control químico y manual se hacen difíciles: por un lado, debido a los costos del control y, por otro lado, a las características biológicas y ecológicas de *R. niveus*. En cuanto al programa de control químico y manual para *R. niveus* costaba nada más que \$1.500.000 entre el 2005 y 2010 con muy poco éxito (Germania García & DPNG, 2011 coms. pers.).

El Control Biológico (biocontrol) es el uso de enemigos naturales vivos y es el nuevo enfoque de manejo para *R. niveus*. El método es usado sobre áreas agrícolas y naturales donde sus ventajas son evidentes, por ejemplo: su efecto continua a través del tiempo y su costo es menor en comparación con las aplicaciones químicas (Van Driesche et al, 2007). En Galápagos, ya se ha manejado un programa de biocontrol que importó el agente de biocontrol *Rodolia cardinalis* Mulsant., para el control de la plaga *Icerya purchasi* Maskell. Este agente ha demostrado ser seguro y ha controlado la plaga a niveles no dañinos en varias plantas nativas de importancia (Hoddle, 2009).

La aplicación de un programa de biocontrol es un proceso que conlleva algunos años de estudio, a través de etapas y procesos importantes, antes de poder hacer uso de un agente de biocontrol. En algunos programas de biocontrol de malezas e insectos plaga, la introducción de múltiples agentes ha sido una práctica usual para asegurar que el agente correcto esté entre ellos ("modelo de lotería"); sin embargo, en más del 50% de los programas que introdujeron múltiples agentes, solamente, uno de ellos demostró ser responsable de los efectos del control (Denoth et al, 2002). Así, los otros agentes resultan ser inefectivos y riesgosos para las especies silvestres (Pearson & Callaway, 2003).

No obstante, estudios recientes han evaluado las dinámicas poblacionales de la maleza, sobre el rango invadido y nativo, para comprender los efectos de la herbivoría y determinar si los agentes de biocontrol pueden afectar las poblaciones de la maleza (modelo predictivo) (Sheppard, 2003). Muchas veces, estos estudios no son realizados debido a las limitaciones logísticas y económicas. Es así, que surge una alternativa que permite incorporar la eficiencia del agente como parte

integral del proceso de selección de los agentes, mediante la simulación de la acción de insectos herbívoros para evaluar las respuestas de las malezas, en varios patrones y niveles de daño (simulación de herbivoría) (Raghu & Dhileepan, 2005).

El presente estudio emplea la técnica de la simulación de herbivoría como una aproximación, para poder conocer la probabilidad de éxito del posible agente de control biológico para *R. niveus*, antes de su introducción a las Islas Galápagos. Las plantas de *R. niveus* fueron evaluadas mediante tres ensayos de simulación de herbivoría que brindaron respuestas acerca del efecto de las defoliaciones artificiales sobre el crecimiento y reproducción de *R. niveus*. Dichas respuestas, actuarán como línea base, mediante el umbral de afección encontrado, para el control de esta maleza invasora.

Para llevar a cabo la simulación de herbivoría, se realizaron defoliaciones artificiales empleando podas a distintos niveles: 25%, 50%, 75% y 100%, sobre plántulas que fueron mantenidas bajo condiciones controladas y semi-controladas (ensayo 1 y 2) y el 33%, 66%, 100% para plántulas juveniles bajo condiciones naturales (ensayo 3). Los datos analizados fueron: longitud máxima, número de tallos, hojas y flores, biomasa de raíz, tallos, hojas, flores y frutos que fueron medidos al final de los experimentos.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Evaluar la eficiencia de un potencial agente de control biológico para *Rubus niveus* Thunb., mediante la simulación de herbivoría.

### Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la simulación de herbivoría sobre el crecimiento y reproducción de *R. niveus* con diferentes niveles de defoliación artificial, bajo condiciones controladas, semi-controladas y naturales.
- Establecer el umbral de daño a ser empleado, como línea base de un potencial agente de control biológico para *R. niveus*.

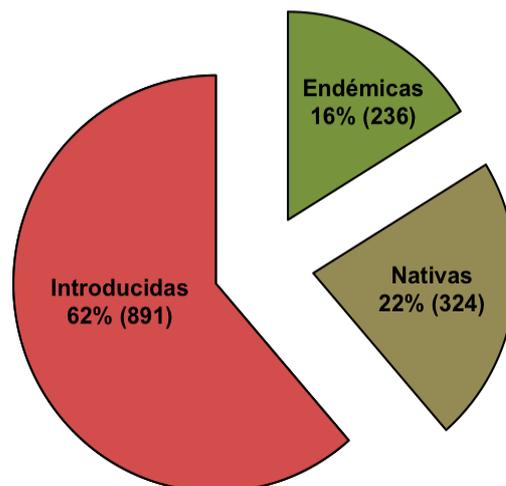
## CAPÍTULO 1

### FLORA DE GALÁPAGOS

#### 1.1 Plantas endémicas

El origen de la flora de Galápagos está ligada a regiones geográficas como: América del Norte, Centro América, América del Sur, entre otras (Porter, 1984). El viento, aves y corrientes marinas jugaron un rol importante en el transporte del nuevo material vegetal desde estas regiones (Zizka, 1995). En Galápagos, la taxonomía de: Pteridophyta, Cycadophyta, Pinophyta y Magnoliophyta suman un total de 1451 especies (incluyen nativas, endémicas e introducidas, figura 1) (Fundación Charles Darwin, 2011a). Cycadophyta y Pinophyta son las únicas clasificaciones que no poseen especies nativas o endémicas (Fundación Charles Darwin, 2011a).

La flora de Galápagos posee siete géneros endémicos agrupados en tres familias: Asteraceae (*Darwiniothamnus*, *Lecocarpus*, *Macraea* y *Scalesia*), Cactaceae (*Brachycereus* y *Jasminocereus*) y Cucurbitaceae (*Sicyocaulis*) (Fundación Charles Darwin, 2011), de las cuales alrededor del 60% de las plantas endémicas se encuentran bajo diferentes niveles de amenaza y muchas de ellas se localizan sobre las islas habitadas (Tye, 2007b).

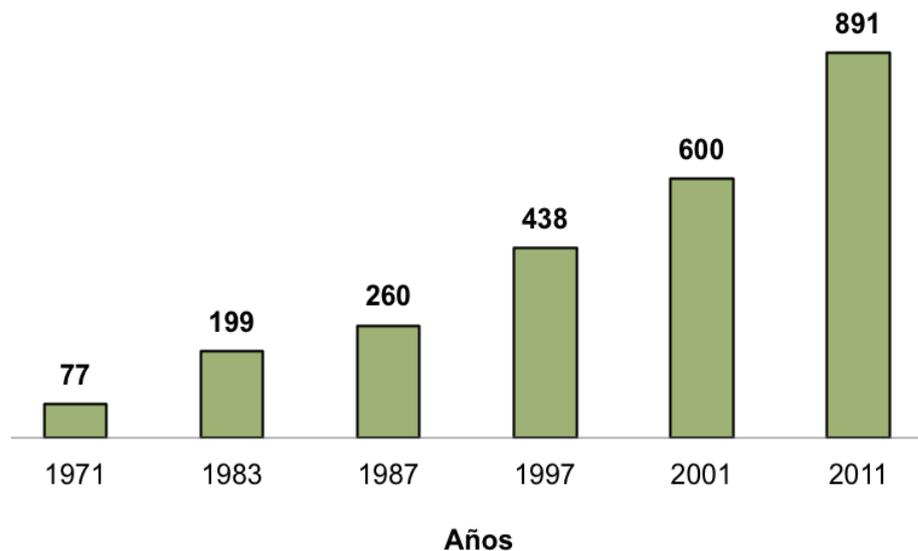


**Figura 1.** Porcentajes del número total de las plantas involucradas en los taxones presentes en Galápagos.

## 1.2 Plantas introducidas

Actualmente, la flora exótica que encontramos en Galápagos fue introducida de dos maneras: a.- intencional: debido a su interés agrícola, ornamental, medicinal y fruticultural, la cual está circunscrita a las islas habitadas de Santa Cruz, San Cristóbal, Floreana, Isabela, Baltra y algunas plantas remanentes de la colonización se encuentran en Santiago (deshabitada); y, b.- accidental: introducida a través de los animales, embarcaciones, ropa, zapatos, etc, que poseen mayor distribución (Lawesson & Ortiz, 1994). En general, desde la perspectiva de los colonizadores, la islas oceánicas no satisfacen las necesidades humanas, por ello su deseo de adquirir flora exótica. Este comportamiento continua transformando la vegetación alrededor del mundo (Mack, 2001).

A través del tiempo, el número de plantas exóticas introducidas ha aumentado, y muchos autores así lo registran, por ejemplo: Wiggins & Porter (1971), Porter (1983), Mauchamp (1997), Tye (2001) (Tye, 2007b), figura 2. Actualmente, de las 891 especies de plantas introducidas, 229 especies están naturalizadas; 109 se consideran invasivas, y dentro de este grupo: 22 especies se consideran transformadoras para las islas Galápagos (Trueman, Atkinson, Guézou, & Wurm, 2010).



**Figura 2.** Número de especies introducidas registrados, por los estudios de Wiggins & Porter 1971; Porter 1983, Lawesson et al, 1987; Mauchmap 1997 y la base de datos de la Fundación Charles Darwin 2001 y 2011.

### 1.3 Amenazas de la flora

#### 1.3.1 Antecedentes

A raíz de la realización del taller de Botánica de 1987, la Estación Científica Charles Darwin inicia en 1991 un programa de conservación; allí se identifica que las principales amenazas de la flora son los mamíferos y las plantas introducidas, así como las actividades humanas que se llevan a cabo, tales como: la explotación de los recursos naturales y la agricultura (Blanton, 1995). Mundialmente, la introducción de especies exóticas es un problema, tanto para los ecosistemas como para los seres humanos, que sumados a sus actividades han provocado extinciones significativas (Rosenzweig, 2001).

#### 1.3.2 El ser humano

El impacto humano se concentra, principalmente, en las zonas altas de las islas habitadas (Moll, 1990), donde las actividades agrícolas y la presencia de plantas introducidas han generado cambios a través del tiempo, por ejemplo: en 1987 la vegetación natural de Santa Cruz posee 3.948,7 ha, pero para el 2006 el 86% (3.415,5 ha) se transforma en cultivos (Villa & Segarra, 2010). Además, las prácticas agrícolas amenazan alrededor del 54% de los taxa clasificados como raros (Adersen, 1989). Un triste ejemplo, debido a la deforestación de cultivos, se evidencia en la Zona de "Scalesia" de Santa Cruz, donde únicamente quedan 100 ha del bosque de *Scalesia pedunculata* Hook.f. que representa el 1.1% del bosque original (Mauchamp & Atkinson, 2010).

Actividades, tales como: la urbanización, turismo, excavaciones de arena y grava e incendios antropogénicos han generado disturbios sobre las áreas silvestres (Adersen, 1994). En general, las actividades humanas sobre las islas Galápagos han provocado que 37.833 ha (5.5%) se encuentren completamente degradadas; siendo Santa Cruz (13.000 ha) e Isabela (14.000 ha) las islas con mayor impacto (Watson, Trueman, Tufet, Henderson, & Atkinson, 2010). Si se considera sólo a la zona húmeda, tenemos que el 38% (1.170 ha) de Florena, el 21% (8.173 ha) de Isabela, el 95% (5.552 ha) de San Cristobal y el 88% (8.381 ha) de Santa Cruz están degradadas (Watson *et al*, 2010).

### 1.3.3 Animales

Los chivos, cerdos, burros, ganado bovino, caballos, gatos, perros y ratas son animales que se han introducido en las zonas silvestres y se encuentran distribuidos en las principales islas habitadas y ciertas deshabitadas como Santiago y Pinta (Valdebenito, 1995). Debido a la influencia de animales de pastoreo, cincuenta y ocho especies de flora están amenazadas, siendo las más afectadas las endémicas (Adersen, 1994), por ejemplo: el principal factor de pérdida de los bosques de *S. pedunculata* en Santiago son los chivos (*Capra hircus* L.) (de Vries & Calvopiña, 1977), amenaza que se ha ido disminuyendo con la erradicación de estos mamíferos sobre distintas islas, por ejemplo: en la Isla Pinta los chivos fueron erradicados después de 30 años (Campbell, Donlan, Cruz, & Carrión, 2004).

### 1.3.4 Plantas

Los mayores problemas de plantas introducidas se localizan en las zonas altas (húmedas y muy húmedas) de las islas habitadas (Soria, Gardener, & Tye, 2002), muchas de las cuales aún no se han expandido dentro de las áreas silvestres de Galápagos; sin embargo, existen especies establecidas en estas áreas que son consideradas invasoras en otras partes del mundo tales como: *Rubus niveus* Thunb., *Psidium guajava* L., *Lantana camara* L., dos especies de *Passiflora* spp. , *Cinchona pubescens* Vahl. y *Tradescantia fluminensis* Vell. (Fundación Charles Darwin, 2011b).

Estas plantas están caracterizadas por su buena dispersión, capacidad de competir y pueden remplazar a la vegetación nativa (Lawesson & Ortiz, 1994), por ejemplo: la quinina *C. pubescens* está afectando la composición vegetal de la zona de Miconia y la Zona de helechos en la isla Santa Cruz (Jäger, 1999). Además esta especie, está afectando alrededor de 11.000 ha en la zona alta de la isla Santa Cruz (Buddenhagen & Yáñez, 2005). También, las plantas introducidas presentan un riesgo para las comunidades vegetales que se localizan al nivel del mar, por ejemplo: *Urochloa brizantha* (A.Rich.) R.D.Webster., *Abrus precatorius* L., *Dalechampia scandens* L. y *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. se han dispersado desde la zona agrícola y están comenzando a invadir las áreas áridas y semiáridas de Santa Cruz (Soria *et al*, 2002).

#### 1.4 Acciones contra las especies introducidas

A nivel mundial, se proponen tres objetivos para el manejo fundamental de las malezas invasoras: a.- prevención y exclusión, b.- pronta detección de la maleza y rápido manejo, c.- control, contención y erradicación (Rejmánek, 2002). Además, otro objetivo importante es la restauración del hábitat, luego de haber concluido exitosamente con programas de control o erradicación. En el año de 1999, el Sistema de Inspección y Cuarentena para Galápagos (SICGAL) inicia sus actividades (Zapata, 2007), que forman parte de un programa integral del Servicio de Aseguramiento de la Calidad del Agro (SACA) que tiene como objetivo prevenir la introducción y dispersión de especies exóticas (plagas y enfermedades) (Heard, 2012). Una herramienta que tiene a su disposición es la lista de productos restringidos, permitidos y no permitidos que actúan como una regulación general, para el transporte de productos hacia y dentro de las islas Galápagos.

Los programas de control y erradicación de las especies invasoras y los de restauración para especies indígenas (ejemplo: reforestación con *S. pedunculata* en zonas de control constante para especies invasoras), son desarrollados en conjunto por el SPNG, AGROCALIDAD y la FCD (FCD y DPNG, 2009). En general, los programas de erradicación son más deseados que los de control, por las implicaciones económicas y ambientales que demandan.

Gardener, Atkinson, & Rentería (2010) evaluaron un total de 30 programas pilotos de erradicación, desarrollados desde el año 1996-2008, incluyéndose varias especies que fueron seleccionadas mediante criterios (ejemplo: Buddenhagen, 2006; Soria *et al*, 2002). De estos programas, cuatro resultaron exitosos para *Rubus megalococcus* Focke., *Rubus adenotrichos* Scdltdl. (Buddenhagen, 2006), *Cenchrus pilosus* Kunth. (Gardener *et al*, 2010) y el kudzu tropical *Pueraria phaseoloides* Roxb. (Tye, 2007a). A pesar de que *C. pilosus* y *R. adenotrichos* fueron erradicadas de Santa Cruz, aún se mantienen en San Cristóbal e Isabela, respectivamente (Gardener *et al*, 2010). Estas especies lograron ser erradicadas porque se encontraban en una sola localidad, su distribución era menos de 1 ha y no tenían un banco de semillas persistente (Gardener *et al*, 2010).

Los programas restantes no se completaron por varias razones: por la falta de fondos a largo plazo, porque las personas no permitían el ingreso a sus propiedades, o porque la extensión de ciertas especies fue mucho más grande que

la anticipada. Como resultado el 64.3 % de los fondos para los programas fue gastado en proyectos discontinuos (Gardener *et al*, 2010). Sin embargo, es probable que haya dos especies erradicadas, pero no confirmadas: *Citrus* spp. y *Persea americana* Mill., en Santiago (Mark Gardener coms. pers.). Una erradicación de plantas que poseen características que las hacen especies invasoras, hace que su control sea difícil, casi imposible y muy costoso (Buddenhagen, 2006). Especies como *L. leucocephala*, *R. niveus* y *C. pubescens* representan objetivos pobres para la erradicación (Gardener *et al*, 2010).

## CAPÍTULO 2

### *RUBUS NIVEUS* THUNB



**Figura 3.** *Rubus niveus* Thunb. (Miquel, 1855).

### 2.1 Taxonomía

**Dominio:** Eukaryota

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida (= Dicotyledoneae)

**Orden:** Rosales

**Familia:** Rosaceae

**Género:** Rubus

**Subgénero:** Idaeobatus

**Especie:** *Rubus niveus* (FCD, 2011).

La especie *R. niveus* es un arbusto espinoso perenne, trepador a erecto que puede llegar a medir de 4-5 m de altura en las islas Galápagos y es conocido localmente como mora (FCD & DPNG. 2009). Dentro de la familia Rosaceae existe alrededor 250 especies del género *Rubus* (Romoleroux, 1996). Debido a su variabilidad morfológica y amplia distribución ha sido atribuida con muchos sinónimos: *Rubus albescens* Roxb., *Rubus boudieri* H. Lév., *Rubus lasiocarpus* Sm., *Rubus niveus* var. *micranthus* (D. Don) H. Hara. entre otros (FCD & DPNG. 2009).

## 2.2 Distribución en su rango nativo e introducido

En su rango nativo *R. niveus* se encuentra distribuida en: el oeste de Asia (Afganistan); China (Gansu, Guangxi, Guizhou, Shaanxi, Sichuan, Xizang, Yunnan); Subcontinente Indio (Bhutan, India, Nepal, Sri Lanka); Indo- China (Laos, Myanmar, Tailandia, Vietnam); Malesia (Indonesia, Malasia, Filipinas); en contraste, a su rango introducido (ha llegado a naturalizarse) está distribuida en: Africa (Zinbabwe), Australasia (Australia), América del Norte (Hawai), en Ecuador continental y en sus Islas Galápagos (USDA; ARS & NGRP, 2011).

## 2.3 Introducción a las Islas Galápagos

Al Ecuador continental, *R. niveus* es introducida por su atractivo como planta frutícola (Romoleroux, 1996), para luego ser ingresada a Galápagos con la misma finalidad (Lawesson, 1994). El primer evento de introducción de *R. niveus* ocurre en la isla Santa Cruz, en la década de los 60's y la introducción a San Cristóbal e Isabela ocurre en los 70's y 80's, respectivamente; sin embargo, se desconoce cuándo esta especie llegó a las islas Santiago (reportada desde 2001) y Floreana (reportada desde 2000) (FCD & DPNG, 2009). La ruta de introducción y el origen de esta especie a Ecuador no están claros; pero lo evidente es que está presente en el Ecuador por lo menos, desde hace unos 50 años (FCD & DPN, 2009). Existen otras especies de *Rubus* que fueron introducidas a Galápagos por su valor frutícola como: *R. adenotrichos*, *R. megalococcus* y *Rubus glaucus* Benth., las cuales son nativas del Ecuador continental y una de origen europeo: *Rubus ulmifolius* Schott. (FCD & DPNG, 2009).

## 2.4 Distribución en Ecuador continental y Galápagos

En Ecuador, *R. niveus* se localiza en las provincias de Esmeraldas, Pichincha, Azuay, Sucumbíos, Napo, Zamora Chinchipe, con un rango de altitud entre los 25msnm hasta los 2800msn (Romoleroux, 1996). Por falta de un mayor número de colecciones, su distribución verdadera es desconocida (FCD & DPNG, 2009). La especie se encuentra en lugares alterados por el ser humano (zonas agrícolas, borde de vías, parques, jardines), aunque no se ha reportado que cubra áreas extensas (FCD & DPNG, 2009). En general, esta especie presenta un aspecto saludable, pero parece estar “bajo control natural” por factores no identificados, posiblemente: competencia, falta de nicho o hábitat, patógenos, insectos, nemátodos en el suelo, diseminación, etc (FCD & DPNG, 2009).

En Galápagos su distribución parece estar restringida a las zonas húmeda y muy húmeda de las islas Santa Cruz, San Cristóbal, Isabela, Santiago (deshabitada) y Floreana (FCD & DPNG, 2009). En Santiago está localizada en tres infestaciones mayores que cubren un área aproximada de 1.000ha y su rango altitudinal va desde los 400msnm hasta la parte alta (Rentería, 2011). Datos aproximativos, evidencian que *R. niveus* cubre 30.000ha sobre las Islas Galápagos, pero si se considera su hábitat potencial en Santa Cruz y San Cristóbal, podría llegar a cubrir 90.000ha o más. (FCD & DPNG, 2009). “Este es un buen ejemplo de cuando la gente local está permitida de introducir plantas “útiles”, e incluso transportarlas de isla en isla, puede causar un desastre ecológico...” (Moll, 1998, p. 6).

## 2.5 Reproducción

La reproducción se efectúa mediante su banco de semillas y ramas que al topar el suelo generan un clon de la planta (FCD & DPNG, 2009). *R. niveus* es una especie hermafrodita, por lo que plantas aisladas pueden producir semillas (Rentería, Atkinson, Buddenhagen, 2007). Esta especie crece rápido y florece a los 6 o 10 meses de vida; mientras que, los rebrotes pueden florecer a los 3 meses, luego de ser cortados (Rentería, 2011). La producción de frutos aparece durante todo el año, con picos en los meses de noviembre a diciembre y un banco de semillas aproximado de 22.800 semillas/m<sup>2</sup> (Landázuri, 2002). Las semillas, por lo menos, necesitan nueve meses para germinar, las cuales pueden seguir siendo viables, después de 4 años (Rentería, 2011).

## 2.6 Dispersión

Muchas especies invasoras son beneficiadas por aves, roedores, animales ferales y el hombre para ampliar su rango de impacto, por ejemplo: los Cucuves de Galápagos (*Mimus parvulus* Gould.), Pinzones de Tierra (*Geospiza* spp.) y Garrapateros (*Crotophaga ani* L.), permiten la expansión de *R. niveus* al alimentarse de sus frutos (Buddenhagen & Jewell, 2006; Guerrero, 2002). La dispersión de semillas pudo haber sido un factor importante, lo cual contribuyó a la rápida naturalización y expansión de *R. niveus*, desde su introducción, y representa un mecanismo potencial, por el cual las aves pueden dispersar semillas a islas adyacentes (Soria, 2006).

## 2.7 Impacto sobre comunidades nativas

*R. niveus* junto a otras especies invasoras ha logrado penetrar extensas áreas, formando rodales monoespecíficos o alterando los tipos de vegetación nativa (Lawesson, 1994). Los impactos de la mora han sido estudiados en mayor medida en el último remanente del bosque de *S. pedunculata* en Santa Cruz [también localizado en San Cristóbal, Santiago y Floreana (Wiggins & Porter, 1971)]. En este bosque, se evidenció que altos niveles de invasión de *R. niveus* tienden a reducir la diversidad, abundancia y cambios en la estructura del bosque.

Por ejemplo: la diversidad y abundancia es más baja para hierbas como *Blechnum pyramidatum* Urb., arbustos como *Chiococca alba* (L.) Hitchc. y el árbol de *S. pedunculata*; mientras que, las especies de helechos como *Asplenium auritum* Morton & Lellinger. fueron más resistentes a la invasión de *R. niveus* (Rentería, 2011). Las diferencias significativas en los parámetros biológicos medidos fueron detectadas cuando la cobertura de *R. niveus* estaba sobre el 60% (valor que se puede considerar como un umbral de impacto) (Rentería, 2011). Además, esta especie es de crecimiento rápido y posee alta tolerancia a condiciones bajo estrés de luz y agua; y, esto le ha permitido invadir un amplio rango de hábitats en las Islas Galápagos (Rentería, 2011). Por último, el número de semillas es mucho más alto y viable que las semillas de especies nativas; tanto semillas de la mora como de las nativas son transportadas a largas distancias por aves (Rentería, 2011).

## 2.8 Control químico y manual

*R. niveus* ha sido controlada en la zona agrícola desde 1992 al 2000 y, de una forma más sistemática, (incluyendo búsquedas más intensas) desde el 2000 al 2002 (Rentería *et al*, 2007). Incluso, con un control efectivo, la reinvasión es inevitable desde las áreas aledañas, necesitando control permanente (Rentería & Buddenhagen, 2006). Actualmente, el método más común es el control manual (usando machete) y, luego la fumigación de rebrotes, usando el herbicida que contiene glifosato (Roundup) ó picloram y 2,4 D (Truper 101) que ha mostrado ser efectivo en plantas adultas y juveniles (FCD & DPNG, 2009). Sin embargo, efectos secundarios sobre la vegetación circundante son desconocidos (Rentería, 2011).

Es necesario hacer un control periódico, cada tres a seis meses, a fin de controlar las plantas que se omitieron en el control previo y los rebrotes, ya que estos pueden florecer en menos tiempo (Rentería *et al*, 2007). Como una medida de manejo alterna, se ha sembrado *S. pedunculata* en algunas áreas de control del PNG, para proveer sombra e impedir el crecimiento rápido de *R. niveus*, aunque el efecto no ha sido muy evidente (FCD & DPNG, 2009).

## 2.9 Costo del Control

Los controles mecánicos o químicos, frecuentemente, son demasiado costosos para ser usados repetidamente (Van Driesche, Hoddle & Center, 2007). Con respecto a la zona agrícola, el costo para despejar una sola hectárea de *R. niveus* varía entre US\$500-2000 y, este valor comparado con la venta anual de los productos agrícolas, resulta ser un déficit financiero, lo que muchas veces ha provocado el abandono de las tierras agrícolas, por ejemplo: con respecto a hortalizas de invernadero tiene un costo de US\$ 18.000, US\$ 16.150 y US\$ 18.794 para el establecimiento, mantenimiento y venta por año, respectivamente (FCD & DPNG, 2009).

Para las zonas protegidas desde el 2006, el Departamento del Parque Nacional Galápagos (DPNG) asignó un presupuesto aproximado de US\$100.000 para el control de la mora en Santa Cruz, San Cristóbal y Floreana y un monto adicional de US\$100.000 para Santiago (FCD & DPNG, 2009). El programa de control químico y manual para *R. niveus* costaba más que \$1.500.000 entre el 2005 y 2010 con muy poco éxito (Germania García & DPNG, 2011 coms. pers.).

En la isla de Santiago, *R. niveus* está siendo controlada desde el 2001 (cuando fue reportada por primera vez). Sin embargo, después de cinco años de control intensivo, se evidencia que resulta improbable su erradicación. Actualmente en Santiago, la especie está distribuida en tres principales infestaciones y está localizada en la parte alta de la isla, allí hay muchos individuos dispersos y pequeños parches, en una área aproximada de 1000 ha, donde los adultos y juveniles aún son encontrados dentro y a los alrededores de infestaciones conocidas (Rentería, 2011). Aproximadamente, 175 ha de nuevas infestaciones han sido encontradas cada año (2001-2011) (Rentería, 2011).

El principal factor para que *R. niveus* continúe su expansión, obedece a la imposibilidad de encontrar todas las plantas antes de que florezcan, y debido a sus características propias y de factores externos, como la dispersión de semillas por aves. (Rentería, 2011). También, su control en ciertos períodos se dificulta debido a la falta de fondos seguros, provenientes de co-financiadores y a las dificultades logísticas del SPNG, lo que impide la continuidad del manejo (Atkinson, Rentería, & Carrión, 2008). Los herbicidas han probado ser una herramienta efectiva para controlar *R. niveus*; sin embargo, los efectos a largo plazo, por el uso continuo de herbicidas sobre especies nativas es desconocido (Rentería, 2011).

Debido a todas las características biológicas, ecológicas y de manejo expuestas, es necesario tener un enfoque que utilice soluciones biológicas, químicas y físicas (Lawesson, 1994); es decir, un Manejo Integrado de la Plaga. Por lo tanto, la implementación de herramientas o métodos más amigables con el ambiente y sustentables a largo plazo son importantes para el nuevo enfoque de manejo de *R. niveus*. Una herramienta muy usada dentro de áreas protegidas es el llamado Control Biológico. Tanto el DPNG como la FCD ven de manera optimista la implementación de esta herramienta, para el control de *R. niveus* que implicará beneficios tanto económicos como ambientales.

## CAPÍTULO 3

### CONTROL BIOLÓGICO

#### 3.1 Historia

Alrededor del mundo, el control biológico fue utilizado por ciertos pueblos que manipulaban a enemigos naturales para controlar plagas, por ejemplo: en China (324 AC) usaban la hormiga *Oecophylla smaragdina* Karavajev & Karawajew. para controlar escarabajos en cítricos (Hajek, 2004). Con el paso del tiempo, una serie de investigaciones comenzaron a dar las bases para el desarrollo del control biológico como ciencia. No obstante, los practicantes de control biológico tuvieron que desenvolverse en una época, en la que el uso de químicos era la única opción para el manejo de plagas.

A mediados de 1942 (Hajek, 2004), la agricultura revoluciona con el uso de plaguicidas sintéticos (ejemplo: DDT y captan) pero con el tiempo se evidenciaron defectos (explosión y resistencia de las plagas, destrucción de los enemigos naturales) y problemas relacionados con el ser humano y la vida silvestre (residuos en los alimentos y el medio ambiente) (Van Driesche *et al*, 2007). Un ejemplo que destaca la denuncia de las afecciones de los plaguicidas sintéticos, fue expuesto por Rachel Carson en su libro titulado “Primavera Silenciosa”, publicado en 1962 (Hajek, 2004). Con estos antecedentes, el control biológico comienza a destacarse entre los años 1960 y 1970 (Van Driesche *et al*, 2007). Sin embargo, sucederá un evento que impulsará mucho más su uso.

Este evento es el primer programa exitoso de control biológico que se desarrolla en California en 1889, donde se importó desde Australia el escarabajo depredador *Rodolia cardinalis* Mulsant para el control de una plaga conocida como escama algodonosa *Icerya purchasi* Maskell., que estaba afectando los cultivos de cítricos (Hajek, 2004). Así, en primera instancia el control biológico es usado sobre las áreas agrícolas para luego extenderse a las áreas naturales y desempeñar un rol importante en su protección y conservación (Van Driesche *et al*, 2007).

### 3.2 Desarrollo de conceptos

El control biológico “es el uso de poblaciones de enemigos naturales para reducir poblaciones de plagas a densidades menores ya sea temporal o permanentemente” (Van Driesche *et al*, 2007, p. 3). Este concepto permite dividir el control biológico en categorías estratégicas de acuerdo al enfoque: a.- el control biológico clásico y b.- de nueva asociación, son enfoques permanentes para el control de plagas; mientras que, el control biológico por: c.- conservación, d.- aumentativo y e.- bioplaguicidas controlan la plaga temporalmente (Van Driesche *et al*, 2007). Por lo general, el uso del Control Biológico Clásico (CBC) o biocontrol clásico es el más adecuado para el control biológico de plagas en áreas grandes, tanto agrícolas como silvestres, de interés para la conservación (Van Driesche *et al*, 2007).

Para aplicar el CBC, se debe considerar que la plaga objetivo a ser controlada tiene que ser una especie invasora exótica y para su control es necesario introducir sus enemigos naturales (Van Driesche *et al*, 2007). En este sentido, podemos desarrollar dos conceptos: especie objetivo, es la especie invasora exótica que se desea controlar mediante un agente de biocontrol; y, la especie no objetivo, son especies nativas, endémicas que, podrían o no, poseer algún tipo de interés como el económico y que por ningún motivo deben ser atacadas por el agente de biocontrol.

El propósito del control biológico clásico “es re-asociar a las plagas con sus enemigos naturales, perdidos durante el proceso de invasión” (Van Driesche *et al*, 2007, p. 179), mediante la introducción intencional de un agente de control biológico exótico que se pueda establecer de manera permanente (Eilenberg, Hajek & Lomer, 2001). Propósito sustentado en la “hipótesis de la liberación del enemigo”, el cual predice que los enemigos naturales especialistas de un especie exótica estarían ausentes en áreas donde ésta ha sido introducida (Keane & Crawley, 2002) y, por lo tanto, muchas de estas especies exóticas, que pueden convertirse en invasoras, alcanza altas densidades (Van Driesche *et al*, 2007).

### 3.3 Enemigos naturales

Mediante el control biológico se puede controlar plantas consideradas malezas, microorganismos que atacan plantas, invertebrados y vertebrados (Hajek, 2004). Específicamente, el control biológico clásico se enfoca en: a.- el control biológico de

invertebrados plaga, que usa depredadores, parasitoides o patógenos y b.- control biológico de malezas, que usa insectos herbívoros y patógenos (Eilenberg *et al*, 2001). Existen pocos casos en los que el control biológico clásico ha sido usado exitosamente, para control de vertebrados (ejemplo: ranas, serpientes) o ciertos invertebrados plaga (ejemplo: caracoles, planarias) que son vistos como objetivos no tradicionales (Hajek, 2004). La próxima sección sólo se indicará los enemigos naturales para malezas.

### 3.3.1 Agentes de control para malezas

Para el control biológico clásico de malezas, se usan insectos, ácaros, nematodos, hongos patógenos (fitopatógenos) y en ciertas ocasiones se ha usado vertebrados herbívoros, tales como: peces (Van Driesche *et al*, 2007). La mayoría de veces se han utilizado insectos fitófagos que son agrupados en gremios de acuerdo a la parte de la planta que consuman, tales como: raíz, tallo, hojas, flores, semillas, frutos (Hajek, 2004). Además, son agrupados por la forma de alimentarse de la planta: succionadores, masticadores, minadores, etc. (Hajek, 2004). De acuerdo al “rango de hospederos”, los enemigos naturales de plagas pueden ser clasificados en generalistas y especialistas (Van Driesche *et al*, 2007). Nueve órdenes constituyen los fitófagos, de los cuales Lepidóptera y Coleóptera han contribuido con el 76% de las 341 especies usadas para el control biológico de malezas (Van Driesche *et al*, 2007).

El uso de fitopatógenos se desarrolló después de 1970 (Van Driesche *et al*, 2007). Existen pocos casos donde se los ha usado para control biológico clásico; mientras que, en unos pocos ejemplos, productos basados sobre patógenos de plantas, han sido usados en liberaciones inundativas (Hajek, 2004). Tanto las royas y tizones son fitopatógenos altamente específicos de plantas vasculares, por lo que son muy deseados para el control biológico de plantas invasoras (Van Driesche *et al*, 2007), por ejemplo: el hongo *Phragmidium violaceum* (Schults) Winter., es un agente de control que ha mostrado buenos resultados para algunas especies de *Rubus* (Ellison & Barreto, 2004).

### 3.4 Ventajas y desventajas

Las ventajas del CBC pueden ser: 1.- los agentes de biocontrol no tienen efectos adversos sobre otros organismos; 2.- los agentes se dispersan sobre vastas áreas y con frecuencia es el único método aplicable en parques nacionales y reservas de bosque donde otros métodos no funcionan; 3.- una vez establecido el control, los agentes de biocontrol se auto-perpetúan y, así, no se necesitan de esfuerzos adicionales en los años siguientes; 4.- todos los involucrados se benefician; 5.- el rango del costo/beneficio es muy alto comparado con el uso de pesticidas (Waterhouse & Norris, 1987, p. 9).

Ejemplificando las ventajas del punto 1 y 3, se considera que cuando se usan plaguicidas, el control es temporal (aplicación anual); en comparación, el CBC resuelve los problemas de plagas permanentemente (Van Driesche *et al*, 2007). En relación al punto 4 y 5, el control de los taladradores *Diatraea spp.* en cultivos de caña de azúcar en Costa Rica, logró la recuperación de US\$ 992.000 en una hacienda, por la disminución de los taladradores para una relación costo- beneficio de 1:170; además, el costo del programa fue de US\$ 66.592 con una recuperación líquida de US\$ 925.408 para una relación costo- beneficio de 1:15 (Badilla, 2002), lo que significa que por cada dólar usado para el programa, 15 dólares son ahorrados.

Las desventajas según Barrera (2002) son: 1.- Ignorancia sobre los principios del método, 2.- reducido apoyo económico, 3.- escaso personal especializado, 4.- poca disponibilidad, 5.- problemas de uso con umbrales económicos bajos, 6.- dificultad para aplicarlo en complejos de plagas, 7.- los agentes de control biológico son susceptibles a los plaguicidas, 8.- los resultados del control biológico se presentan a largo plazo.

### 3.5 Éxitos y fracasos

El éxito de un programa de CBC pueden ser evaluado desde dos puntos de vista: 1.- éxito ecológico, grado que “las comunidades naturales invadidas regresan a su estado previo a la invasión, conforme son reducidos los efectos competitivos de la maleza invasora...” (Van Driesche *et al*, 2007, p. 229); y 2.- éxito económico, que los beneficios económicos de la supresión de la maleza deben exceder los costos del proyecto. Beneficios que “continúan acumulándose indefinidamente a través del

tiempo, tanto que la proporción costo/beneficio de un proyecto, aumenta anualmente después del control exitoso” (Van Driesche *et al*, 2007, p. 229).

Resumir el éxito en los programas de CBC puede resultar complicado debido a la subjetividad de los resultados (Denoth, Frid, & Myers, 2002). Sin embargo, alrededor del mundo, el 43% de los proyectos de insectos-plaga, existe un éxito sustancial o parcial (Van Driesche *et al*, 2007); mientras que, los proyectos de malezas muestran un 66% de control completo, más parcial (Mcfadyen, 1998). Cuando una plaga es controlada parcialmente son necesarios otros métodos de control, pero que los esfuerzos requeridos han sido reducidos debido a la actividad del enemigo natural (Hajek, 2004). Muchos investigadores de biocontrol de malezas usan el término “éxito” y significa “éxito completo”, en el que ninguna otra medida de control es requerida para reducir la densidad de la malezas a niveles que no sean problema (Van Driesche *et al*, 2007).

Entre los ejemplos exitosos de CBC está la centaurea machada en Norteamérica (*Centaurea maculosa* L.), mediante la liberación de múltiples agentes como las moscas formadoras de agallas *Urophora affinis* Frauenfeld., *Urophora quadrifasciata* Meigen. y el picudo *Cyphocleonus achates* Fabricius. (Van Driesche *et al*, 2007). No obstante, el uso de un sólo agente ha sido efectivo para el control de *Acacia saligna* Labillardière. en África mediante *Uromycladium tepperianum* Saccardo. (Denoth *et al*, 2002). Dentro del biocontrol de malezas acuáticas existen éxitos espectaculares, tales como: el ocurrido en 1980 en lago Moondarra en Australia, donde el uso del gorgojo negro *Cryptobagous salviniae* Calder & Sands. para el control del helecho flotante *Salvinia molesta* D.S.Mitch., fue logrado en menos de un año (Room, 1990).

Indudablemente, no se puede dejar de mencionar el desarrollo del manejo del programa de biocontrol para el insecto plaga *I. purchasi* mediante *R. cardinalis*. Este insecto fue reportado por primera vez en 1982 y ha logrado establecerse sobre 15 islas de Galápagos, donde amenaza alrededor de 62 especies de plantas nativas o endémicas (Causton, Licango, & Poulson, 2004). Desde 1996 se comienzan a tomar medidas para ver la posibilidad de comenzar con un programa de biocontrol para esta plaga y así luego de tres años, tras haber realizado los estudios preliminares, llegan individuos de *R. cardinalis* a las nuevas instalaciones de cuarentena de la FCD, donde se estableció una colonia y se pudo realizar pruebas rigurosas de especificidad (Causton *et al*, 2004).

Para el 2002, *R. cardinalis* fue liberada y luego de 7 años se considera que el programa ha madurado lo suficiente para continuar con el monitoreo y evaluar su eficiencia y posibles impactos negativos en Galápagos (Hoddle, 2009). El análisis preliminar indica que *R. cardinalis* ha sobrevivido y se ha dispersado sobre áreas nuevas, controlando la plaga a niveles no dañinos, en varias plantas nativas de mayor importancia (Hoddle, 2009). El proyecto ha sido seguro, debido a que *Rodolia* no ataca a insectos que no son el blanco (especies no objetivo) de este programa (Hoddle, 2009).

Un ejemplo de control substancial o parcial ocurre con *L. camara* en Hawaii, África del Sur, Australia, muchos países del este de África, el sur y este de Asia, y el Pacífico; a pesar de la liberación de 41 agentes (de los cuales 3 son patógenos) no han logrado un control adecuado para esta maleza (Day, Wiley, Playford, & Zalucki, 2003). Una de las razones, por las que el control ha fallado es la gran diversidad y habilidad para hibridar de *L. camara*; por tanto, su origen como una planta híbrida ornamental complica la búsqueda de su centro de origen y así para agentes potenciales (Day *et al*, 2003).

Tanto los programas de artrópodos como los de malezas poseen factores asociados al éxito de sus programas y, entre éstos, se consideran: la capacidad de establecimiento del enemigo natural de la plaga en el área liberada (adaptaciones al clima); el hábitat y los hospederos, por ejemplo: habitats simples (hibernaderos, bosques) con redes de alimentación no complejas y con relación a los hospederos ha existido más éxito en controlar plantas (hospedero) con reproducción asexual (ejemplo: *S. molesta*) que sexual (ejemplo: *L. camara*); determinación del número de liberaciones (el uso de uno o múltiples enemigos naturales); las evaluaciones después de la liberación del agente de control biológico para conocer su nivel de control (Hajek, 2004) y conflictos de intereses (generalmente en programas de malezas) debido a que muchas veces la planta objetivo puede tener valor económico (Mcfadyen, 1998).

### **3.6 Riesgos**

En primera instancia, el control biológico fue usado sin ningún tipo de planificación e investigación, por entes privados o públicos, que no eran profesionales, resultando fracasos que indudablemente presentaron efectos negativos, por ejemplo: en 1872 los agricultores de Jamaica introdujeron mangostas de la India

*Herpestes auropunctatus* Hodgson., para el control de las ratas en sus cultivos de caña de azúcar, las cuales atacaron especies de aves y pequeños mamíferos nativos (Van Driesche *et al*, 2007). En otro caso, para 1835 el gobierno Australiano permitió la introducción del sapo *Bufo marinus* L. que no ha tenido ningún efecto sobre las larvas en cultivos de caña, pero sí sobre especies nativas de vertebrados terrestres (Van Driesche *et al*, 2007).

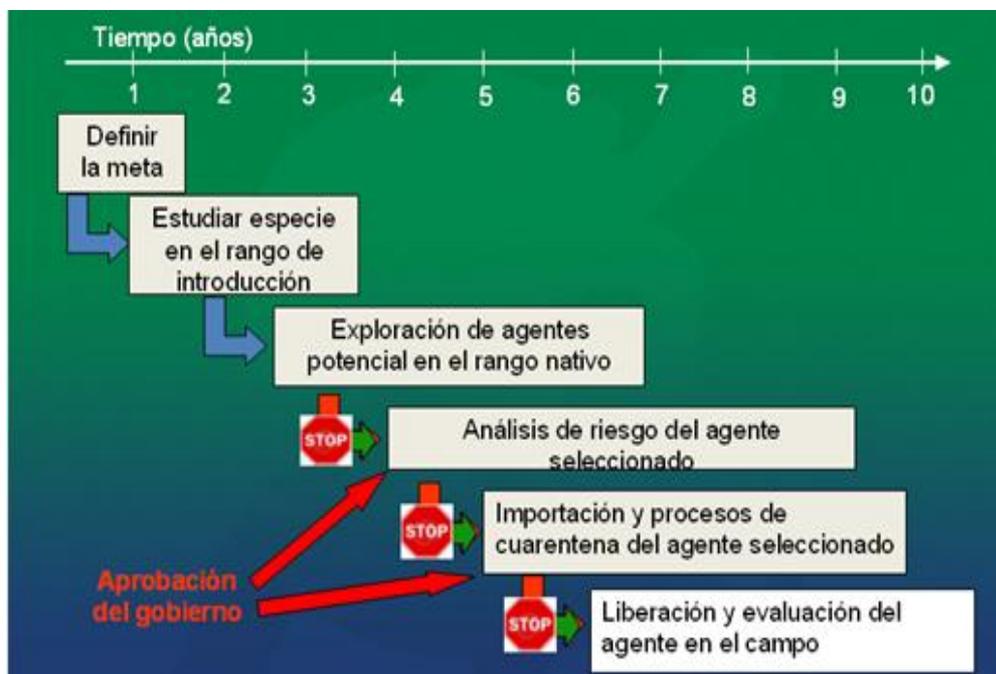
En Estados Unidos, alrededor de 1920-1970 existía poco interés acerca de los potenciales efectos de los enemigos naturales en especies nativas que no presentaban beneficio económico (Van Driesche *et al*, 2007). Hecho que puede ilustrarse con la introducción del gorgojo *Rhinocyllus conicus* Froeh. para el control del cardo de Eurasia *Carduus nutans* L., el cual disminuyó la población del cardo nativo *Cirsium canescens* Nutt. (efecto ecológico directo) y tal disminución afectó a *Paracantha culta* Wiedemann. (efecto ecológico indirecto) (Louda, Kendall, Connor, & Simberloff, 1997). Los insectos nativos también pueden ser afectados como lo sucedido en Hawai, cuando se importó los insectos parasitoides *Trissolcus basalis* Woolaston. y *Trichopoda pennipes* Fab., para el control de la chinche apestosa *Nezara viridula* L. (Waterhouse & Norris, 1987).

Con el tiempo las medidas cautelarias fueron mejor consideradas, por ejemplo: las pruebas de análisis de riesgo para la introducción de la mosca sierra *Lophyrotoma zonalis* Gagné., para el control del árbol *Melaleuca quinquenervia* (Cavier.) Blake. en Florida (1990's), determinaron que existían riesgos mínimos para el ganado y aves nativas, ya que las larvas *L. zonalis* son tóxicas (Van Driesche *et al*, 2007). Sin embargo, *L. zonalis* no fue liberada debido a que no se conocían los efectos sobre otros vertebrados nativos y, en adición, se consideró que las aves migratorias al llegar hambrientas podían ingerir una cantidad considerable de larvas como para producirles la muerte (Van Driesche *et al*, 2007).

En Estados Unidos, Australia y Nueva Zelanda existen leyes para reducir el daño a las especies nativas, por ejemplo: en Estados Unidos el USDA (The U.S. Department of Agriculture)-APHIS es la autoridad que protege a las plantas del daño por agentes de biocontrol para malezas introducidas; de esta manera, todas las plantas nativas (amenazadas o no) son protegidas. Además, existen estándares para la importación de agentes de biocontrol como los usados por la NAPPO (North American Plant Protection Organization) (Van Driesche *et al*, 2007).

### 3.7 Pasos para implementar el Control Biológico Clásico

Los programas de control biológico clásico para insectos y malezas poseen diferencias y similitudes, pero generalmente sus pasos se resumen en la colecta de sus enemigos naturales en el área de origen del invasor, su envío al país invadido y (después de las pruebas adecuadas de cuarentena para asegurar la identificación correcta y la seguridad) de su liberación y establecimiento (Van Driesche *et al*, 2007). El proceso de control biológico para *R. niveus* puede tomar hasta diez años (figura 3), con un costo total de US\$1.000.00, para lograr un control sistemático integrado (FCD & DPNG, 2009).



**Figura 4.** Principales etapas de un programa de control biológico con escala en años (FCD & DPNG, 2009a).

Antes de iniciar un proyecto de biocontrol, es necesario generar un amplio acuerdo social acerca de la necesidad de suprimir plagas selectas, sin conflictos de interés no resueltos, entre los grupos involucrados (Van Driesche *et al*, 2007). El apoyo de las instituciones y de los gobiernos es vital para la continuidad de los programas de control biológico clásico, debido al tiempo considerable que necesitan para su desarrollo, por ejemplo: los proyectos para los insectos plaga van desde los 5-10 años y para malezas desde los 5-20 años (Van Driesche *et al*, 2007). A continuación, se desarrollan los pasos concernientes al control biológico para *R. niveus*.

### 3.7.1 Definir las metas

Las metas a definir son: reducción de los impactos en la agricultura, reducción de los impactos en el ecosistema natural, reducción en la dispersión de la maleza y la sensibilización del público e instituciones de gobierno del proceso de control biológico, aclarando dudas y estableciendo expectativas reales (FCD & DPNG, 2009). Tales metas serán abarcadas por representantes del Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP), Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro (AGROCALIDAD), Ministerio del Medio Ambiente, DPN; además de los finqueros y otros dueños de propiedades rurales (FCD & DPNG, 2009).

Se debe considerar, también, que muchas veces la plaga de interés tiene importancia económica y, a pesar de la destrucción del hábitat que puede causar, el control biológico se vuelve problemático (Ellison & Barreto, 2004), por ejemplo: el cedro *Cedrela odorata* L. aún no es considerado, por los agricultores galapagueños, un problema y, al contrario, es valorado por su madera de alta calidad y si esta especie quiere ser erradicada se debe buscar una alternativa. Afortunadamente, en Galápagos el valor económico de *R. niveus* perdió fuerza una vez conocido su impacto negativo sobre los cultivos de subsistencia y de gran escala (FCD & DPNG, 2009).

### 3.7.2 Estudiar la especie en el rango introducido

Es importante determinar el origen y número de eventos de introducción de *R. niveus* en Galápagos, mediante estudios genéticos que permitan: a.- conocer el área exacta dentro del rango nativo de la especie donde buscar agentes de control y b.- aumentar la probabilidad de encontrar una alta especificidad, por ende un alto impacto sobre *R. niveus* (FCD & DPNG, 2009). Muestras de esta especie, han demostrado ser genéticamente más cercanas a las muestras provenientes de India que las muestras de Nepal y China, permitiendo estrechar la búsqueda (Royal Botanic Gardens, 2011). Además, los estudios ecológicos para *R. niveus* están avanzados; sin embargo, la comparación entre el continente y el archipiélago podría ayudar a entender: por qué la especie es tan invasora en Galápagos, pero no en el continente (FCD & DPNG, 2009). Otra necesidad de estudio considerada por la FCD, es la desarrollada, mediante el presente estudio de tesis.

### 3.7.3 Exploración de agentes en el rango nativo

Determinado el origen geográfico de *R. niveus* en Galápagos, se trabajará en colaboración con científicos de este lugar, a fin de poder buscar enemigos naturales (FCD & DPNG, 2009). En base a observaciones de trabajo de campo, y ensayos sencillos de laboratorio, con una selección de agentes potenciales en su país de origen, se tendrá que seleccionar una o algunas especies con las cuales trabajar a continuación (FCD & DPNG, 2009).

Agentes de biocontrol, ya han sido liberados para otras especies de *Rubus*. En Chile, la roya *P. violaceum* ha resultado ser efectivo para el control de *Rubus constrictus* Lef. & M. y *R. ulmifolius* (para el año 1973 fue estimado que estas dos especies cubrían 5 millones de hectáreas) donde se estableció y dispersó rápidamente sobre el área infestada (70 Km después de 20 meses) y en menos de tres años desde su introducción inicial (1973) ha cubierto la parte meridional de Chile (Ellison & Barreto, 2004). En Hawai, cinco especies de insectos que atacan hojas fueron liberados entre 1963 y 1969 para el control de *Rubus argutus* Link. y tres de ellas se establecieron, *Croesia zimmermani* Clarke., *Priophorus morio* Lepeletier. y *Schreckensteinia festaliella* Hübner. (Denoth *et al*, 2002).

La búsqueda de biocontroladores para *R. niveus* sobre el Valle Kullu, Himachal Pradesh, India, ha resultado del hallazgo de cuatro agentes de biocontrol que aún no son sometidos a ningún tipo de prueba: el fitopatógeno *Phragmidium* spp. que ataca a nivel de hojas defoliándolas. Dos especies de insectos dentro de la familia Lepidóptera, el primero una especie de taladrador de tallos y el segundo una especie de polilla que vive en las partes apicales de la planta, provocando envejecimiento del tejido; y, una mosca sierra que se alimenta dentro de las hojas (Carol Ellison, coms. pers.).

### 3.7.4 Análisis de riesgo del agente seleccionado

“La selección del agente es un paso crítico, y la selección del mejor agente es el “santo grial” en el biocontrol de malezas” (McFadyen, 1998, p. 375). Por ello, existen herramientas, tales como: los inventarios faunísticos para compilar una lista de especies herbívoras y de fitopatógenos que ataquen a la planta (Van Driesche *et al*, 2007). Esta lista permitirá seleccionar los enemigos naturales a ser enviados a un laboratorio de cuarentena para las respectivas pruebas de especificidad del

hospedero. Los enemigos naturales serán seleccionados en base a su eficacia en el rango nativo, especificidad y eficacia prevista en Galápagos (FCD & DPNG, 2009). La eficacia del agente se refiere a la capacidad de una población del agente para suprimir la población del hospedero (Sheppard, 2003). Los agentes más eficaces son los que suprimen más rápidamente, a sus hospederos, logrando niveles muy altos del daño ó atacando las etapas del hospedero, donde pequeñas cantidades de daño, conllevan cambios relativamente grandes en la dinámica del anfitrión (Sheppard, 2003).

### 3.7.5 Importación y cuarentena

Una instalación de cuarentena está diseñada para ser un área altamente segura, en la cual pueden ser abiertos los envíos de organismos del extranjero, excluidos los contaminantes y criados los enemigos naturales; mientras se determina su seguridad para la liberación en el país receptor (Van Driesche *et al*, 2007). Las pruebas de especificidad y posterior crianza se podrían llevar a cabo en la cámara de contención de la FCD, si el agente potencial es un insecto (FCD & DPNG, 2009). Sin embargo, en el caso de ser un fitopatógeno, el trabajo solo podría realizarse en instalaciones de otro país, ya que, hasta la fecha, en el Ecuador no existen instalaciones adecuadas para este propósito (FCD & DPNG, 2009). La información sobre el proyecto y los resultados del análisis de riesgo deberán ser presentados al Servicio Ecuatoriano de Cuarentena, así como, al Comité de Sanidad Agropecuaria y al Sistema de Cuarentena para Galápagos (SICGAL) para su aprobación legal (FCD & DPNG, 2009).

En las instalaciones de cuarentena, los biocontroladores seleccionados serán sometidos a bioensayos para determinar su habilidad o capacidad de impactar a *R. niveus*. Además, las especies de plantas que no son el objetivo se someterán a evaluaciones, mediante una herramienta importante para la selección de agentes de biocontrol conocida como Análisis de Riesgo de Plagas (ARP) que busca conocer el daño potencial o grado de riesgo para otras plantas en la zona receptora (Van Driesche *et al*, 2007). Para lo cual, se generará un lista de especies de plantas no objetivo para realizar pruebas de especificidad del hospedero por ejemplo: en la lista de especies para las pruebas de especificidad de tres agentes de biocontrol, para el jacinto de agua *Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach., se incluyó un total de 164 plantas (Singh, 2004).

En Ecuador, hay diecinueve especies nativas de *Rubus* (incluyendo tres endémicas) y tres especies introducidas (FCD & DPNG, 2009). Las especies nativas pertenecen a los subgéneros *Rubus* (nueve especies), *Orobatus* (nueve especies) e *Idaeobatus* (una especie), que es el mismo subgénero que *R. niveus* (FCD & DPNG, 2009). El único miembro nativo de este subgénero es el híbrido tetraploide *R. glaucus* (mora de castilla), un cultivo comercial importante en algunas provincias del Ecuador (FCD & DPNG, 2009).

*R. glaucus* es producido cerca de Ibarra y Ambato, entre los 1800 - 3000 msnm y se ha estimado que su cultivo cubre 5200 ha (70% está en la provincia de Tungurahua) con un valor de primera producción de 20.8 millones de dólares por año; por lo tanto, esta especie deberá ser incluida en las pruebas para especies no objetivos, al igual que la rosa (*Rosa híbrida*), ya que es una especie de exportación significativa para Ecuador (FCD & DPNG, 2009). Debido a que los diferentes subgéneros de *Rubus* son muy distintos, es probable que no sea necesario realizar pruebas con las otras especies de *Rubus* (FCD & DPNG, 2009).

### 3.7.6 Liberación y evaluación del agente en el campo

Una vez que el agente de biocontrol sea reproducido en grandes cantidades en condiciones de cuarentena, podrá ser liberado y evaluado en el futuro para asegurar el éxito de establecimiento y la propagación en el ambiente (FCD & DPNG, 2009). Es necesario hacer un esfuerzo significativo para maximizar la probabilidad de colonización del agente en el campo, ya que si no logra hacerlo todos los años de trabajo invertidos serían desperdiciados. En evaluaciones posteriores, deberá demostrarse que el control biológico reduce la densidad de la planta o la superficie que cubre, o que permite un control más eficiente por otros medios para considerar: si el control es exitoso o no (Van Driesche *et al*, 2007).

## CAPÍTULO 4

### SIMULACIÓN DE HERBIVORÍA

#### 4.1 Un cambio de mentalidad

Tradicionalmente, los proyectos de control biológico de malezas se guían por un “modelo de lotería” (Raghu & Dhileepan, 2005). En este modelo, para lograr un control acertado, se debía incrementar la probabilidad de que la especie de control correcta, ya ha sido liberada, mediante la introducción de un alto número de agentes, y así era más probable que el correcto, estuviera, entre ellos (Denoth *et al*, 2002). Este método es muy usado dentro de malezas tropicales, donde la colección de posibles agentes es relativamente larga y, por lo tanto, escoger es particularmente difícil (Sheppard, 2003).

Este modelo ha sido evaluado por los estudios de Myers, Higgins, & Kovacs (1989) y Denoth *et al* (2002), quienes se han planteado una pregunta en común: ¿Cuántas especies de organismo de biocontrol son necesarias, para el control biológico de malezas e insectos plaga? En torno a esta pregunta, se analiza el número de agentes de control relacionados con el éxito de los proyectos, donde se evidencia la tendencia en el uso del “modelo de lotería”. Por ejemplo, Denoth *et al*, 2002, analizó 59 proyectos contra malezas y 108 proyectos contra insectos plaga, donde demuestra que el establecimiento de agentes de control fue más alto cuando se usó un solo agente, que múltiples agentes contra insectos plaga, pero no en proyectos contra malezas.

Además, el 50% de proyectos acertados que usaron múltiples agentes en malezas e insectos plaga, uno solo demostró ser responsable del éxito (Denoth *et al*, 2002). Por lo tanto, es importante “minimizar los efectos potenciales sobre especies no objetivo, mediante la disminución del número de agentes de control biológico a usar, mientras se está maximizando el agente potencial para el control” (Pearson & Callaway, 2003, p. 457). Debido a esta situación, existe la preocupación de mejorar el proceso de priorización y selección de los agentes, usando un modelo predictivo más que un “modelo de lotería”.

## 4.2 El modelo predictivo

El modelo predictivo es una de las herramientas que pueden ser aplicadas en los procesos de priorización y selección de agentes de los programas de control biológico, para evaluar la eficacia de los agentes, antes de ser liberados (Goolsby, Zonneveld, & Bourne, 2004). Evaluaciones que durante mucho tiempo han recibido menos atención, en comparación con los test de la especificidad del hospedero y de las evaluaciones de riesgo (McClay & Balciunas, 2005). Los estudios que han usado una aproximación predictiva, permiten comprender las dinámicas poblacionales de la maleza en el rango nativo y/o invadido, en relación a los posibles efectos que puede generar la herbivoría (Sheppard, 2003) y así determinar si el re-establecimiento de los enlaces tróficos perdidos, entre el herbívoro especialista y la planta en el rango invadido, probablemente resulta en control biológico (Raghu & Dhileepan, 2005).

Por ejemplo: El efecto potencial por el ataque del ácaro *Floracarus perrepae* Knihinicki & Boczek., sobre el helecho invasor *Lygodium microphyllum* (Cav.) R. Br., en su rango nativo (Australia) durante 2 años de estudio y en condiciones naturales, demostró que el ácaro causó un daño significativo al helecho, concluyéndose que *F. perrepae* sería un excelente candidato para el biocontrol de *L. microphyllum*, en su rango introducido (Florida) (Goolsby *et al*, 2004). Por otra parte, un estudio en cuarentena en el rango introducido (Norteamérica), demostró que *Rhinoncomimus latipes* Korotyaev. al ser liberado para el control de *Polygonum perfoliatum* L. en Norteamérica, tendría un efecto substancial sobre esta maleza (Colpetzer, Hough-Goldstein, Harkins, & Smith, 2004).

Frecuentemente, las evaluaciones de pre-liberación de los agentes de biocontrol para conocer su eficacia no son posibles en el caso de muchas malezas neotropicales (Raghu, Dhileepan, & Treviño, 2006). Las dificultades tanto en la logística del rango nativo como la dificultad de evaluar el impacto en lugares de cuarentena estrictas, impiden su realización; por lo que una alternativa para evaluar el potencial efecto de un agente de biocontrol, consiste en simular el daño del herbívoro mediante daño mecánico (tijeras, perforadoras, etc.) sobre diversas partes de la planta para conocer sus respuestas al daño (Raghu *et al*, 2006).

### **4.3 Utilidad de la simulación de herbivoría**

Las respuestas al daño infringido por un herbívoro pueden jugar un papel importante dentro del término conocido como tolerancia. Tales respuestas pueden otorgar importantes aportaciones ecológicas acerca de la tolerancia hacia los herbívoros, mediante el estudio de la simulación de herbivoría (Raghu & Dhileepan, 2005). Esta información puede ser muy útil en la selección de agentes para el control biológico clásico, ya que los estudios de simulación de herbivoría generan resultados que proveen de una guía para la exploración del agente; de esta manera, se limita el tiempo disponible para la exploración en el rango nativo, y así enfocarse sobre gremios con una mayor probabilidad de ser agentes efectivos (Raghu & Dhileepan, 2005).

Obviamente, si se priorizan los agentes que evidencian potencial para controlar el organismo objetivo, se podría minimizar el número de especies liberadas en los proyectos; además, si se limitara el número de especies liberadas, podría reducirse los riesgos a especies que no son el objetivo y ,de esta manera, mejorar el éxito del proyecto usando agentes eficaces (Denoth *et al*, 2002; Pearson & Callaway, 2003). De esta manera, además del criterio de selección de agentes, mediante las pruebas de especificidad del hospedero, se haría uso de evaluaciones para determinados gremios de insectos que actuarían como un filtro valioso de eficacia, mediante el estudio de los efectos de la herbivoría sobre especies de maleza (Wirf, 2006).

### **4.4 Tolerancia al ataque**

La tolerancia ha sido investigada por agricultores quienes estuvieron simulando el daño por la necesidad de estimar el costo económico de la herbivoría. Sin embargo, la tolerancia de la planta a la herbivoría en poblaciones naturales recientemente ha recibido atención (Strauss & Agrawal, 1999). La herbivoría de insectos puede generar respuestas que involucran cambios sobre la producción de semillas y/o frutos, la biomasa vegetal, supervivencia y crecimiento, composición química de las plantas, etc. (Strauss & Agrawal, 1999). Estos cambios pueden ser negativos sobre la población de las plantas, pero ellas, podrían generar altos niveles de tolerancia al daño, provocando un efecto positivo (Strauss & Agrawal, 1999).

#### 4.4.1 Conceptos

El término tolerancia responde a la habilidad de las plantas para volver a crecer y/o reproducirse después de la acción de un herbívoro, lo cual podría servir como una defensa de la planta o reflejar el grado de aptitud de planta afectada (Strauss & Agrawal, 1999). Además de la tolerancia, existen otros términos relacionados con la misma: la compensación (frecuentemente usado como sinónimo de tolerancia) que es el grado de tolerancia exhibido por las plantas (Strauss & Agrawal, 1999). Si las plantas dañadas tienen la misma aptitud que las plantas sin daño, éstas tendrán, luego, la capacidad de compensar completamente por la herbivoría, y si las plantas dañadas tienen mayor aptitud que las plantas sin daño, después estas se sobrecompensarán y, finalmente, si ellas tienen aptitud más baja, la compensación será insuficiente (Strauss & Agrawal, 1999).

#### 4.5 Ventajas

La simulación de herbivoría posee algunas ventajas en comparación con el uso de la herbivoría natural (uso de insectos). La simulación de herbivoría mediante daño mecánico permite controlar el tipo, tiempo y el grado o magnitud del daño hacia las plantas experimentales (Hjältén, 2004). Asumiendo que los experimentos fueran apropiadamente seleccionados al azar, el daño simulado evitaría el problema, si diversas familias genéticas recibirían cantidades desiguales de herbivoría, así mismo el problema de los factores ambientales perjudicaría las estimaciones de la tolerancia (Tiffin & Inouye, 2000).

En ambientes naturales, diferentes tipos de daño por herbívoros tienen diferentes efectos sobre el crecimiento, biomasa y química de la planta (Hjältén, 2004). Usualmente, en estos ambientes las plantas son dañadas en diferentes magnitudes, por diferentes especies de herbívoros; lo cual dificulta la evaluación del efecto relativo en diferentes herbívoros, tanto en las características de la planta, como sobre las interacciones bióticas (Hjältén, 2004). No obstante, este problema puede ser solventado mediante la simulación de herbivoría, ya que se puede usar de manera separada o agruparlos a los diferentes herbívoros (Hjältén, 2004).

Además, la magnitud del daño mecánico puede ser directamente medido, simplemente, pesando la biomasa (Baldwin, 1990). En consecuencia, la habilidad compensatoria o la tolerancia de la planta puede ser medida de manera exacta

(Hjältén, 2004) y esto es posible, debido a que la magnitud del daño puede ser controlada de un modo más fácil, y mantenido constantemente a través de las réplicas, más que mediante el daño natural (Baldwin, 1990).

Con respecto al análisis de datos, el daño simulado en comparación con el daño natural puede resultar mejor, porque puede evitar el sesgo ocasionado por variables ambientales, por ejemplo: en situaciones donde la aptitud de la planta y la densidad del herbívoro varían de acuerdo a los tipos de microhábitats. Las estimaciones de la respuesta de la planta a la herbivoría natural puede ser sesgada debido a que las plantas que están creciendo en micrositios favorables, pueden recibir más daño que las plantas sujetas a menos herbivoría y que están creciendo en micrositios menos favorables (Tiffin & Inouye, 2000).

Simular el daño por un herbívoro es simple de realizar, además consume menos tiempo para dañar las plantas de manera mecánica, que si se encontrara plantas dañadas naturalmente o introducir herbívoros para las plantas seleccionadas (Hjältén, 2004). El uso del daño artificial permite diseñar experimentos eficientes, con tamaños de muestras balanceadas y baja variación en los tratamientos de intensidad de defoliación dentro de cada grupo experimental. Por estas razones, el daño artificial es usado con más frecuencia en investigación de herbivoría que el uso de herbívoros reales (Hjältén, 2004).

## **4.6 Desventajas**

### **4.6.1 Interacciones bióticas simples**

Incluso simulando los efectos de la herbivoría natural sobre las interacciones bióticas y abióticas simples (ejemplo: el impacto directo de la herbivoría sobre crecimiento de la planta, supervivencia, fisiología y respuestas defensivas en contra del herbívoro que causa el daño), podría no ser una fortaleza, desde que la herbivoría no es apropiadamente imitada con respecto a la naturaleza y al tiempo del daño causado (Hjältén, 2004).

En estudios llevados a cabo, para inducir respuestas a las plantas mediante el uso de herbívoros (respuestas inducidas), se aprecia que el uso del daño mecánico no exhibe ciertas respuestas de las plantas obtenidas por los herbívoros, por ejemplo: al estudiar el perejil *Lepidium virginicum* L., se concluye que las respuestas

inducidas por *Pieris rapae* L. son correlacionadas con el incremento en la diversidad de defensas químicas (glucosinolatos) en un 50% e incrementos en las defensas físicas (tricomas), lo que le permite a la planta resistir el ataque de pulgones, demostrando altos rangos de supervivencia en comparación con los individuos de *L. virginicum* que fueron dañados artificialmente (Agrawal & Kurashige, 2003). Además, esta resistencia puede ser heredada como en el caso de las plantas del rábano silvestre *Raphanus raphanistrum* L. al inducir las respuestas de la planta mediante *P. rapae* (Agrawal, Conner, Johnson, & Wallsgrave, 2002)

Algunos insectos herbívoros alteran la fisiología de la planta inyectando sustancias de crecimiento durante la oviposición, como es el caso de los insectos formadores de agallas, lo que hace muy difícil imitar el daño; o por medio de la saliva cuando los insectos se están alimentando, por ejemplo: las hojas dañadas del arbusto *Rhamnus alpinus* L. por insectos herbívoros tuvo altas concentraciones de una sustancia fenólica lo que posiblemente refleja un efecto inducido por el daño de los herbívoros (Bañuelos, Sierra, & Obeso, 2004). De esta manera, insectos formadores de agallas, minadores, succionadores e insectos que se alimentan de las raíces son muy difíciles de imitar e incluso imposible, excepto para herbívoros muy específicos, como los que se alimentan de semillas (Hjältén, 2004).

Otro factor importante que se debe considerar, cuando se desea aplicar daño simulado, es el tiempo del mismo sobre el cual el perjuicio está hecho, ya que con frecuencia el daño simulado se aplica una sola vez; mientras que, la acción de los insectos herbívoros es un proceso continuo que ocurre a través de las temporadas de crecimiento (Hjältén, 2004), por ejemplo: el daño hecho por insectos herbívoros sobre *Ipomoea purpurea* Roth. es mucho más fuerte en la primera y última temporada de crecimiento, que la temporada intermedia (Tiffin, 2002). Además, el tiempo del daño por insectos durante las temporadas de crecimiento, incrementan el crecimiento, reproducción y expresión de químicos en las plantas (Hjältén, 2004).

#### 4.6.2 Interacciones bióticas complejas

En las interacciones planta-insecto pueden suceder efectos directos como indirectos, que permiten a la planta reaccionar o resistir al ataque de insectos herbívoros (Walling, 2000), por ejemplo: Los fitoquímicos (isotiocianatos) liberados por especies de plantas de la familia Brassicaceae debido a la acción del Lepidóptero especialista *P. rapae*, mostraron que estos químicos reducen la

sobrevivencia y crecimiento de *P. rapae* y, en consecuencia, esto permite que la planta sea resistente al ataque del insecto (efecto directo); paradójicamente, estos mismos compuestos atraen a este especialista para reproducirse sobre su hospedero (Agrawal & Kurashige, 2003).

No solamente los herbívoros difieren en cómo y qué parte de la planta están removiendo. También ellos difieren en la composición de la saliva y regurgitantes, vectores patógenos, interacciones tróficas, etc. Por lo tanto, diferentes tipos de herbívoros pueden inducir diferentes respuestas en las plantas (Voelckel & Baldwin, 2004), por ejemplo: las respuestas inducidas por cuatro especies de larvas de Lepidópteros generaron diferentes respuestas defensivas sobre el rábano silvestre *Raphanus sativus* L y, así, la inducción causada por *Plutella xylostella* L. (especialista) y *Spodoptera exigua* Hubner. (generalista) resultó en resistencia general para todos los herbívoros; en contraste, la inducción causada por *P. rapae* (especialista) indujo resistencia solamente para *S. exigua* y *P. rapae*; y, el daño a *R. sativus* causado por *Trichoplusia ni* Hubner. (generalista), falló en inducir resistencia (Agrawal, 2000).

Además, las plantas generan compuestos volátiles para atraer a los enemigos naturales hacia la planta que están siendo dañada por el insecto (efecto indirecto) (Walling, 2000). Por ejemplo: la alimentación de larvas de *S. exigua* sobre plántulas de una variedad de maíz, liberaron terpenoides que atrayeron hembras de la avispa parásita, *Cotesia marginiventris* Cresson. (químico que no fue liberado cuando se simuló el daño, a menos que, se aplicara saliva de larvas sobre el tejido afectado) (Turlings, Tumlinson, & Lewis, 1990). Deduciendo que, la saliva de los insectos puede jugar un rol importante en las respuestas de las plantas (Walling, 2000).

Muchos estudios han incluido la herbivoría natural para poder saber si el efecto del daño artificial es el mismo o difiere. Lehtilä & Boalt (2004) evaluaron 46 estudios para determinar si la defoliación natural y artificial tienen respuestas similares. De estos 33 casos (72%), mostraron diferencias entre las respuestas al daño artificial y al natural, en al menos una de las pruebas estadísticas. Los 46 estudios poseían 280 tests estadísticos, de los cuales el 99 (35%) demostró una diferencia significativa entre estos dos métodos. Estos estudios contenían diferentes variables de respuesta, siendo la resistencia de la planta (medida a través del desarrollo de los herbívoros, liberación de compuestos volátiles que atraen enemigos naturales, entre otros) la más sensible en demostrar diferencias en daño artificial y natural,

donde el 60% de los tests estadísticos y el 85% de los estudios tuvieron diferencias significativas.

En cambio, el crecimiento y la reproducción difirieron en un 20% de las pruebas estadísticas y en un 50% de los estudios y, por último, las respuestas fisiológicas difirieron en un 30% de los tests estadísticos y el 83% de los estudios tuvieron diferencias significativas (Lehtilä & Boalt, 2004). Así, los estudios sobre la tolerancia de la planta (crecimiento y reproducción después del daño) con más frecuencia, muestran efectos similares tanto para el daño artificial como para el natural (Lehtilä & Boalt, 2004)

A pesar de que la simulación de herbivoría posee algunos inconvenientes, continúa siendo un método popular (Lehtilä & Boalt, 2004). El valor de los experimentos para simular herbivoría dependerá del tipo de pregunta que se desea contestar (Raghu & Dhileepan, 2005). Así, la simulación de herbivoría puede proveer pistas valorables sobre la tolerancia al daño, la cual puede ser evaluada sobre procesos básicos de las plantas, tales como: crecimiento, reproducción y respuestas fisiológicas generales; pero podría causar confusión con procesos relacionados a interacciones complejas (Hjältén, 2004).

## CAPÍTULO 5

### METODOLOGÍA

#### 5.1 Sitios de estudio

En la zona alta de la Isla Santa Cruz se realizaron tres ensayos defoliativos con un número total de 170 plantas. Los dos primeros ensayos fueron llevados a cabo en el vivero de la FCD, localizado en la parroquia Bellavista (00.4100°S, 00.1890°W) a una altura de 268msnm que dista 7km del cantón Puerto Ayora. El tercero en una finca localizada en el sector conocido como “El Occidente” (00.6895°S, 090.36462°W), a una altura de 227msnm que dista de la parroquia Bellavista, alrededor de 3km. Los ensayos fueron desarrollados en diferentes condiciones: condiciones controladas (ensayo 1), condiciones semi-controladas (ensayo 2), y condiciones naturales (ensayo 3).

#### 5.2 Ensayo 1

##### 5.2.1 Recolección y establecimiento de plántulas en parcelas

En enero del 2010 cien plántulas de *R. niveus* provenientes de semillas de alrededor de 2 semanas fueron recolectadas en el sector de “Los Gemelos” (300msnm), un área fuertemente infestada por *R. niveus*. En el vivero, fueron trasplantadas en fundas de polietileno de 45.5cm de longitud x 30cm de ancho con una mezcla de suelo y granillo. Sin exposición directa a la luz solar, las plántulas recibieron las mismas cantidades de agua por tres meses.

Para el mes de abril, cuarenta plántulas fueron dispuestas sobre parcelas de 4m de largo x 3m de ancho en condiciones de casa sombra (umbráculo) (figura 5) y marcadas con placas metálicas que indicaban su número y tratamiento. Las plántulas fueron asignadas al azar y, de esta manera, 16 plántulas (repeticiones) fueron asignadas a cuatro tratamientos defoliativos: T1= 100%, T2= 75%, T3= 50%, T4= 25% Además, 16 plantas fueron colocadas como control: T5= 0% (figura 6).



**Figura 5.** Plántulas de *R. niveus* establecidas en umbráculo.



**Figura 6.** Plántulas de *R. niveus* con primer evento de defoliación artificial.

### 5.2.2 Proceso para la defoliación artificial

La simulación de herbivoría se llevó a cabo por un período de 7 meses (abril-noviembre), con intervalos de defoliación artificial de 30 días. Durante este período el daño mecánico sobre las plantas de *R. niveus* fue infringido mediante tijeras de podar para realizar cortes al azar a nivel del pecíolo de las hojas, simulando el daño hecho por insectos fitófagos. Los cortes incluían hojas en buen estado, que fueron distribuidos para las hojas de todos los tallos presentes de cada planta. Por lo tanto, la defoliación artificial fue aplicada a las plantas como unidad para los tres ensayos. Los eventos defoliativos terminaban en un mes antes de cosechar las plantas, esta fue una condición para todos los ensayos.

Para llevar a cabo la defoliación artificial se realizó un cálculo estándar para todos los ensayos: Tratamiento defoliativo ÷ número de hojas totales, presentes en la planta en los meses de defoliación x 100%= número de hojas a ser defoliadas artificialmente. Durante, los meses de defoliación artificial se evidenció el ataque de insectos fitófagos sobre las hojas de *R. niveus* (Anexos 2 y 3) por lo que se aplicó un insecticida foliar hasta la ausencia de los mismos (alrededor de 2 semanas). Además, de la presencia de un posible hongo (Anexo 1).

### 5.2.3 Cosecha

Para el mes de diciembre, se cosechó plantas de *R. niveus* de alrededor de 11 meses de vida (figura 7). Las plantas fueron liberadas de la masa de tierra con agua y luego se procedió a tomar los datos de longitud máxima, número de tallos, hojas y flores. La longitud máxima es la longitud del tallo más largo, que fue medida desde el ápice de crecimiento hasta el límite del tallo con el suelo, mediante una cinta métrica (cm). Por último, se seccionó con una podadora la raíz, tallos y hojas, las cuales se dispusieron por separado en fundas de papel.



**Figura 7.** Plantas adultas de *R. niveus* de alrededor de 11 meses vida y detalle de la flor.

#### 5.2.4 Secado y pesado

Las plantas cosechadas fueron ingresadas a una secadora de plantas del Departamento de Botánica de la FCD. Alrededor de 4 a 7 días fueron mantenidas a una temperatura constante de 40°C. Una vez secas las secciones de las plantas fueron llevadas al laboratorio del mismo Departamento, donde fueron pesadas en una balanza analítica para obtener los gramos de la biomasa en seco. Considerada la planta como unidad, los tallos producidos en una misma planta fueron pesados en conjunto.

### 5.3 Ensayo 2

#### 5.3.1 Recolección y establecimiento de plántulas en parcela

En el sector de “Los Gemelos”, en diciembre del 2010, se recolectaron 180 plántulas de *R. niveus* provenientes de semillas de alrededor de 2 semanas, que fueron trasplantadas en fundas de polietileno de 25cm de longitud x 14cm de ancho. Durante 2 meses (diciembre-febrero) fueron constantemente irrigadas y protegidas de la luz solar directa hasta ser establecidas en la parcela experimental (figura 8).



**Figura 8.** Plántulas de *R. niveus* sembradas en fundas de polietileno e irrigadas hasta su establecimiento en la parcela experimental.

La parcela experimental fue adecuada en un área de 25m<sup>2</sup>. En la parcela se aplicó herbicida pre-emergente para minimizar el rebrote de plantas por raíces o semillas que no pudieron eliminarse. Una capa de aserrín y granillo fue colocada para reducir la presencia de hormiga de fuego *Solenopsis geminata* Fabricius. y sofocar aún más las emergencia de plantas indeseadas. La parcela fue rodeada con tool resistente para evitar el ingreso de perros y gallinas. Además, se construyó una estructura con tool negro de tejido plástico, para proteger a las plántulas del intenso sol del mes de marzo. El tool fue retirado a finales de mayo, cuando las plántulas estuvieron mejor establecidas.

Para el mes de marzo se seleccionaron y sembraron directamente en el suelo un total de 50 plántulas en la parcela experimental (figura 9), en donde fueron marcadas con placas metálicas que indicaban su número y tratamiento. Constantemente, las plantas fueron irrigadas, lo cual ya casi no fue necesario, porque sobrevino julio debido, la estación de “garua”.



**Figura 9.** Plántulas de *R. niveus* establecidas en un área del vivero de la FCD.

### 5.3.2 Proceso para la defoliación artificial

Durante 5 meses, se realizaron las defoliaciones artificiales (abril-septiembre) con intervalos de defoliación de 30 días. Se asignaron al azar 10 plántulas (repeticiones) para cuatro tratamientos: T1= 100%, T2= 75%, T3= 50%, T4= 25%, además, 10 plantas como control: T5= 0%. Las defoliaciones artificiales se realizaron mediante cortes en las hojas con tijeras de podar, los cuales fueron distribuidos sobre el número de tallos que se encontraban presentes al momento de realizarla.

### 5.3.3 Cosecha

Para el mes de octubre, se cosechó plantas de alrededor de 10 meses de vida (figura 10) extrayéndolas del suelo usando una barreta para luego transportarlas a la mesa de “seccionado” (figura 11) ya en este lugar se contaban y cortaban simultáneamente las hojas. Las flores y frutos fueron colectados por separado en fundas de malla transparente. El conteo de flores incluyó tanto flores abiertas como cerradas (capullos). Libre las plantas de hojas, flores y/o frutos se midió la longitud máxima con un flexómetro (cm). Listas las medidas y conocido el número de tallos se procedió a cortarlos en pequeñas partes con el uso de una podadora (figura 12). De igual manera, cada parte de la planta fue colocada en fundas de papel.



**Figura 10.** Plantas adultas de *R. niveus* de alrededor de 10 meses de vida y detalle del fruto.



**Figura 11.** Extracción de una planta adulta de *R. niveus* en la parcela de Bellavista.



**Figura 12.** Finalizando la cosecha de una planta de *R. niveus* sobre la mesa de “seccionado”.

#### 5.3.4 Secado y pesado

Las muestras fueron mantenidas en la secadora de la FCD a 40°C por un período de 4 a 7 días (figura 13). La biomasa en seco de los tallos, hojas, flores y frutos fue obtenida en una balanza analítica (figura 14).



**Figura 13.** Secadora botánica con muestras de *R. niveus*



**Figura 14.** Obteniendo la biomasa de las hojas secas de *R. niveus* en una balanza analítica

## 5.4 Ensayo 3

### 5.4.1 Búsqueda de *R. niveus*

Para el mes de marzo del 2011, se realizó la búsqueda de una mancha de *R. niveus* en una finca agrícola y ganadera en el sector “El Occidente”. La búsqueda comprendió los alrededores y el interior de un área cubierta por pasto elefante (*Paspalum conjugatum*). Una mancha de *R. niveus* de alrededor de 400m<sup>2</sup> fue localizada en el interior del área de *P. conjugatum*, la cual estaba rodeada de árboles de *C. odorata* (figura 15).



**Figura 15.** Mancha de *R. niveus* encontrada en un área combinada de *P. conjugatum* y *C. odorata* de una finca agrícola-ganadera en el sector de “El Occidente”.

### 5.4.2 Establecimiento de la parcela

De la mancha de *R. niveus*, se eliminaron las plantas que estaban en estado de floración y fructificación. Un total de 40 plantas alrededor de 5 meses, fueron seleccionadas. Estas plantas ya tenían desarrollados nuevos tallos que fueron marcados con cintas de color. De igual manera, las plantas fueron marcadas con una placa metálica. La parcela fue protegida con un cerco de alambre moto, para prevenir que el ganado pisotee las plantas (figura 16).



**Figura 16.** Plántulas de *R. niveus* de alrededor de 5 meses de vida seleccionadas de una mancha en el sector de “El Occidente”

#### 5.4.3 Proceso para la defoliación artificial

Durante un lapso de 5 meses, se realizaron las defoliaciones artificiales (abril-septiembre) con intervalos de defoliación de 30 días. Las plantas fueron distribuidas al azar para tres tratamientos de defoliación: T1: 33%, T2: 66%, T3: 100% con 10 plantas asignadas al control T4: 0%. Mediante tijeras de podar se cortaron las hojas que se encontraban distribuidas en los tallos de las plantas. En este ensayo, insectos fitófagos atacaron las hojas de *R. niveus* (Anexos 4, 5, 6, 7 y 8), pero no se aplicó insecticida.

#### 5.4.4 Cosecha

Para el mes de octubre se cosecharon las plantas. Días antes de la cosecha, se midió la longitud máxima, el número de tallos producidos y el número de hojas. Se usó una podadora para separar los tallos y hojas. Cada sección vegetal fue dispuesta en fundas de papel. El secado de las secciones y la toma de datos en laboratorio fueron similares al realizado en los ensayos anteriores con la excepción de que no hubo datos de flores y frutos. Aquí, se obtuvo los datos de biomasa en seco para los tallos y hojas.

## 5.5 Análisis de datos

Los valores de todos los experimentos fueron transformados usando  $\log_{10} +1$ , antes del análisis, para aumentar la homogeneidad de la varianza y normalizar la distribución de los datos. Los datos fueron analizados usando ANOVA de una vía, con el nivel de defoliación (5 niveles) como el factor y, según sea el caso, la longitud máxima, número de tallos, hojas, flores frutos y biomasa de raíz, tallo, hojas y flores como las variables dependientes. Todos los análisis fueron desarrollados usando MINITAB 13. Interacciones con factores externos no fueron analizadas en este estudio.

No se consideró para ninguno de los ensayos, tomar el diámetro, debido a que no refleja de una manera constante y linear el crecimiento de *R. niveus*. Por otra parte, para los ensayo 1 y 2, no se consideró para su análisis las plantas que hayan muerto, porque se hace evidente que la mortalidad ocurre principalmente en los niveles de defoliación altos como del 100%, y se hizo más fácil explicar estas plantas muertas agrupándolas en una figura adicional. Aunque, existe mortalidad en otros tratamientos, pero es muy baja.

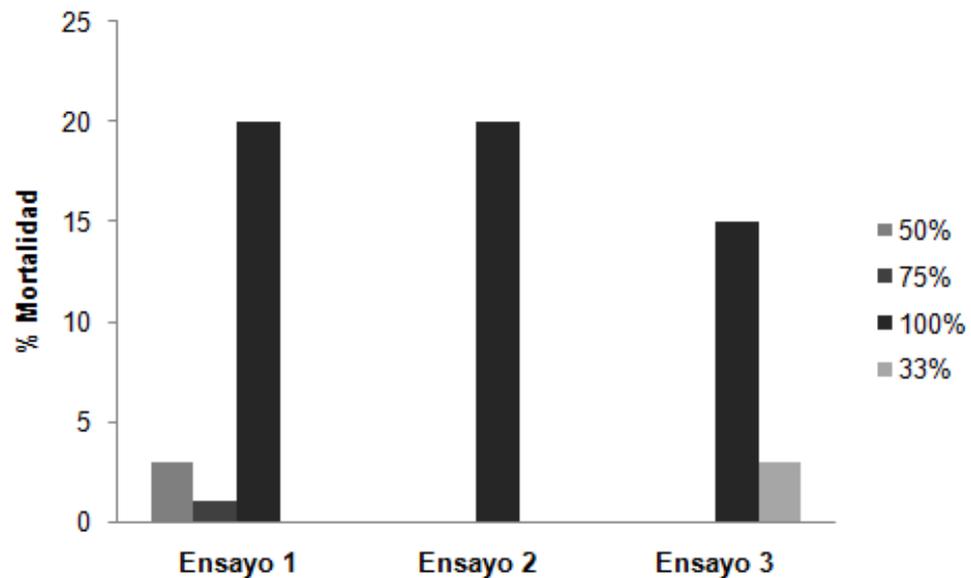
Sin embargo, dentro del ensayo 3 tenemos cuatro plantas que sobrevivieron en el tratamiento del 100% y, en este sentido, creo pertinente hacer uso de las plantas muertas (con valor cero) para poder homogenizar adecuadamente el número de muestras en este tratamiento, por que al realizar el análisis con un número de cuatro plantas, no me indica diferencia con respecto al control, pero si se incluye las seis plantas muertas haciendo un total de 10 plantas, los resultados sí muestran diferencias en contraste con el control.

Finalmente, en el ensayo 2, al momento de la cosecha se evidenció que algunas plantas estaban en estado de fructificación, otras en estado de florificación y mixto (cuando una planta tenía flores y frutos). Por lo tanto, para un mejor entendimiento y para aumentar la cantidad de observaciones, los datos del número de frutos fueron unificados a los datos del número de flores. Al realizar el análisis por separado se evidenció que no existe diferencia con respecto al número de flores, pero si se añade los datos del número de frutos, sí se evidenció diferencia con respecto al control.

## CAPÍTULO 6

### RESULTADOS

Para los tres ensayos de simulación de herbivoría, la mortalidad de *R. niveus* es más evidente en los tratamientos defoliativos con mayor nivel de intensidad (figura 16). Para el ensayo 1: de un total de 80 plantas, el 24% muere (19 plantas), las mismas que se distribuyen en los tratamientos defoliativos del 50% (2 plantas), 75% (1 planta) y 100% (16 plantas). Para el ensayo 2: de un total de 50 plantas, el 20% muere dentro del tratamiento defoliativo del 100% (10 plantas), y para el ensayo 3: de un total de 40 plantas el 18% muere (7 plantas), las cuales se distribuyen en los tratamientos defoliativos del 33% (1 planta) y 100% (6 plantas).

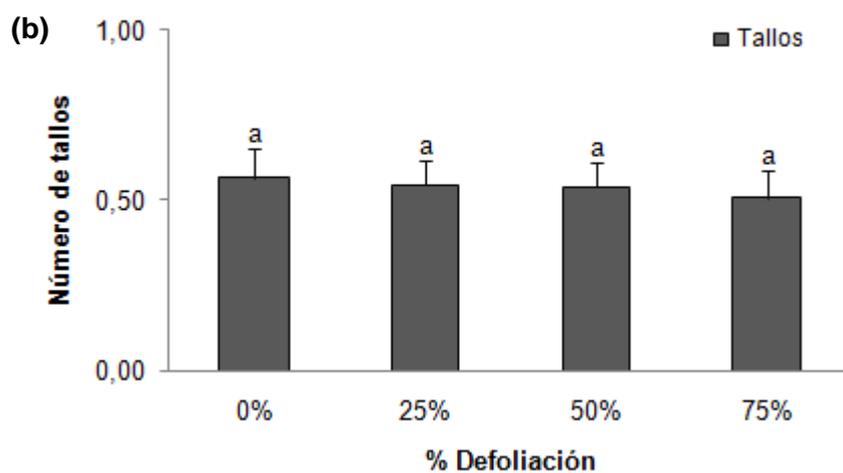
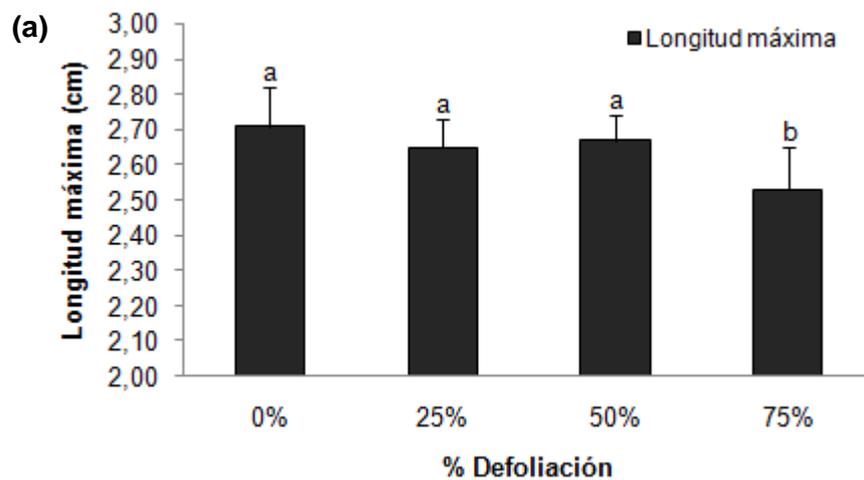


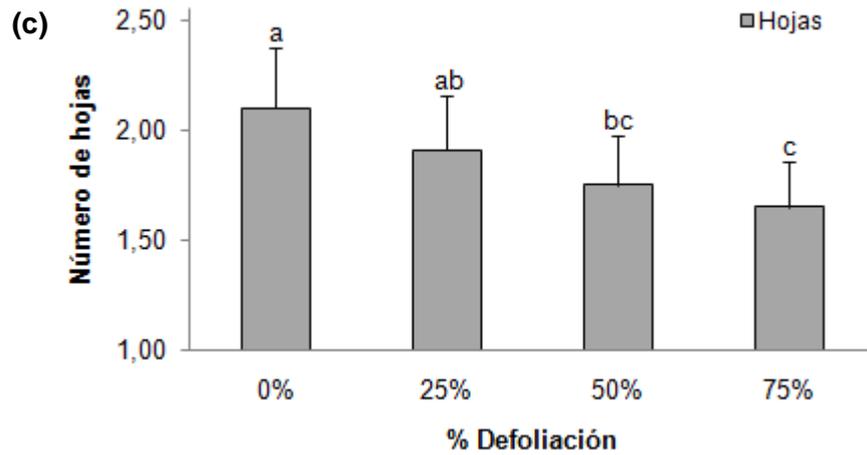
**Figura 17.** Mortalidad de plantas de *R. niveus* sobre los tres ensayos experimentales de simulación de herbivoría.

## 6.1 Ensayo 1

### 6.1.1 Longitud máxima, número de tallos y hojas

Con relación a la longitud máxima de *R. niveus*, se evidenció una mayor reducción de esta variable sobre las plantas que recibieron defoliación artificial > 50%, en relación al control (0%) (figura 18a). Sobre el número de tallos no existió diferencia en ninguno de los tratamientos de defoliación artificial con relación al control (figura 18b). El número de hojas indicó que con defoliaciones artificiales >50% existe una reducción de las mismas con relación al control (figura 18c).

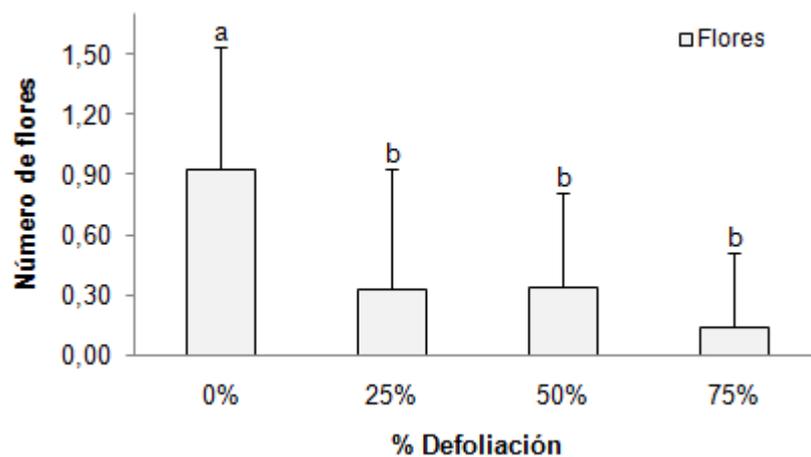




**Figura 18.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la longitud máxima, número de tallos y hojas de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

#### 6.1.2 Número de flores

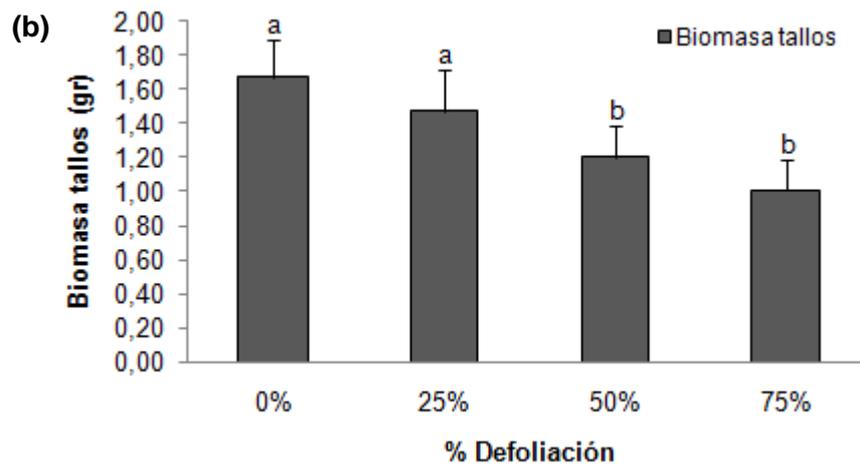
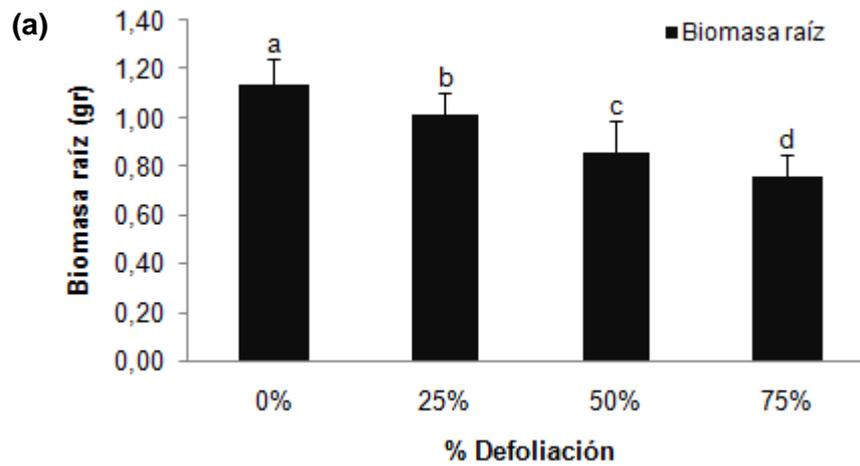
Un total de 23 plantas produjo flores, como sigue: 12 para el tratamiento del 0% de defoliación artificial, 4 para el 25%, 5 para el 50%, y 2 para el 75%. La disminución sobre el número de flores ocurrió desde eventos >25% de defoliación artificial con relación al control (figura 19).

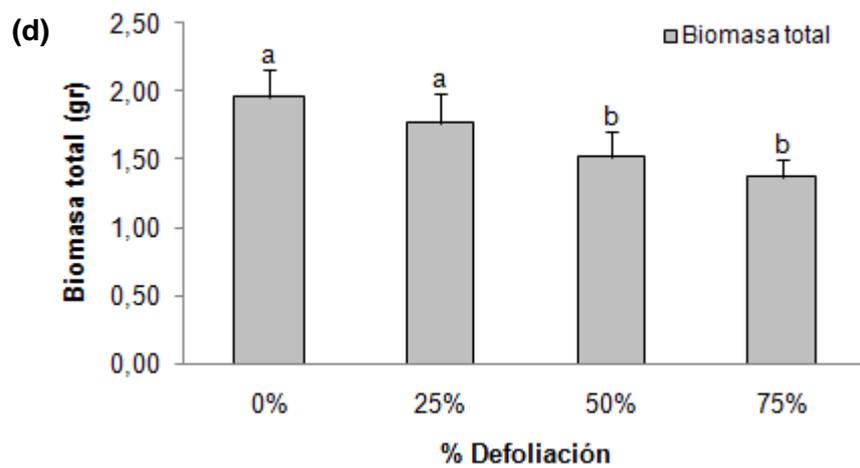
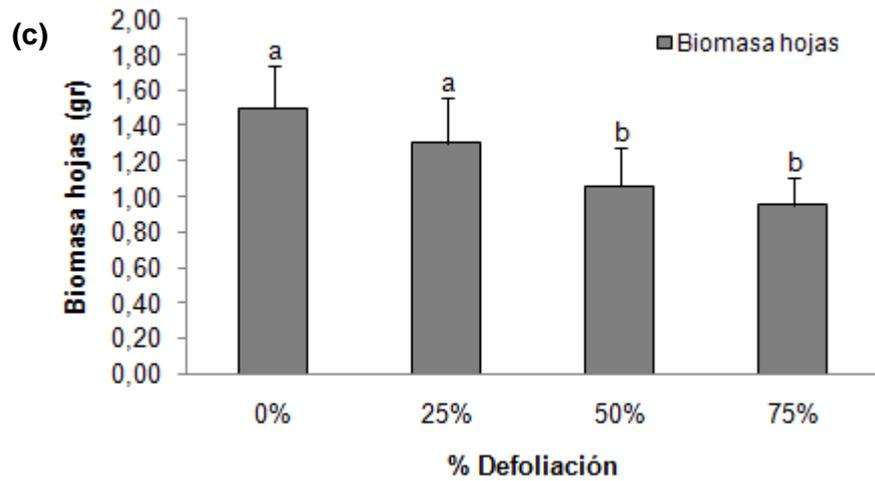


**Figura 19.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre el número de flores producidas por *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa, entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

## 6.1.3 Biomasa de raíz, tallos y hojas

La mayor reducción con respecto a la biomasa de raíz tallos y hojas fue más evidente cuando las plantas fueron sometidas a defoliaciones artificiales >50% (figuras 20a, b, c). En general, la reducción aún se mantiene sobre estos mismos niveles de defoliación artificial sobre la biomasa total (figura 20d).





**Figura 20.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la biomasa de raíz, tallos, hojas y biomasa total de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

Según el análisis de ANOVA, se detectaron diferencias sobre la longitud máxima, número de hojas y número de flores (tabla 1). En contraste, no se detectaron diferencias significativas sobre el número de tallos (tabla1). Los resultados de la biomasa de las plantas de *R. niveus* sobre la raíz, tallos, hojas y biomasa total (suma de raíz, tallos y hojas) indican diferencias según el análisis de ANOVA (tabla 2).

**Tabla 1.** Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 1. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento y reproducción como las variables dependiente

Variable	Factor	DF	SS	MS	F	P
Longitud máxima	% defoliación	3	0,3413	0,1138	8,91	0,000
	Error	57	0,7279	0,0128		
	Total	60	1,0692			
Número Tallos	% defoliación	3	0,02728	0,00909	1,48	0,229
	Error	57	0,34976	0,00614		
	Total	60	0,37704			
Número Hojas	% defoliación	3	1,8253	0,6084	10,270	0,000
	Error	57	3,3774	0,0593		
	Total	60	5,2028			
Número Flores	% defoliación	3	5,550	1,850	6,70	0,001
	Error	57	15,745	0,276		
	Total	60	21,295			

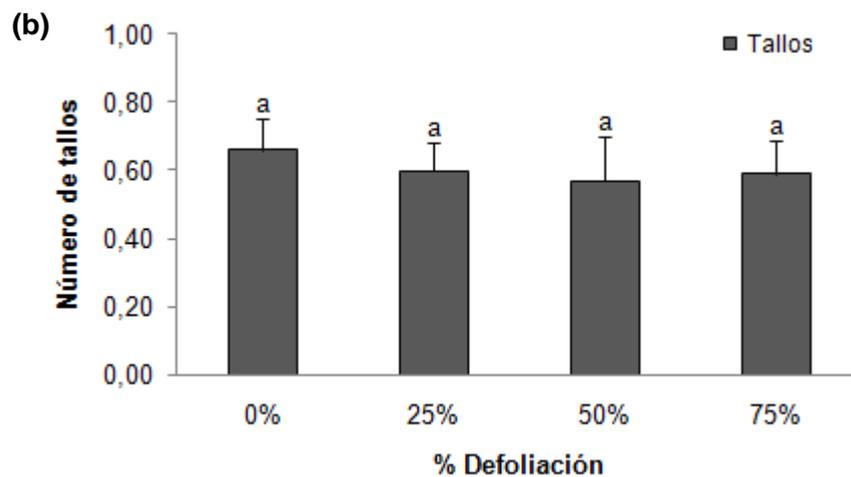
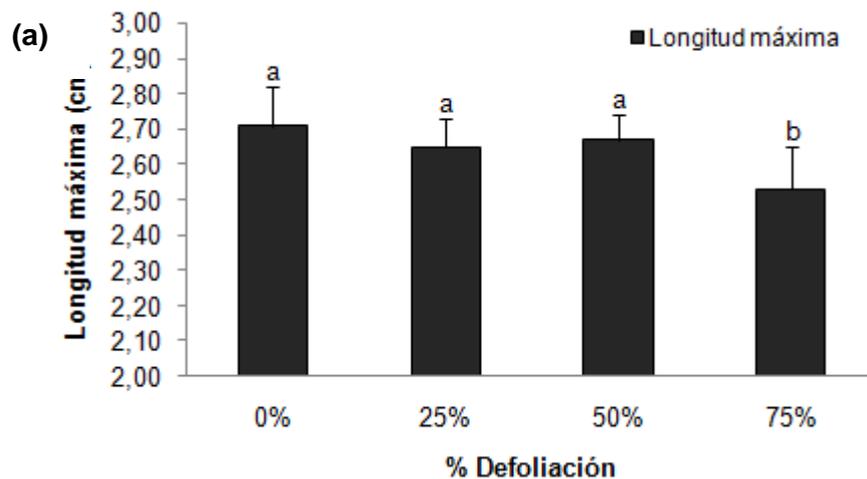
**Tabla 2.** Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 1. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) como factor y los parámetros de crecimiento como las variables dependientes.

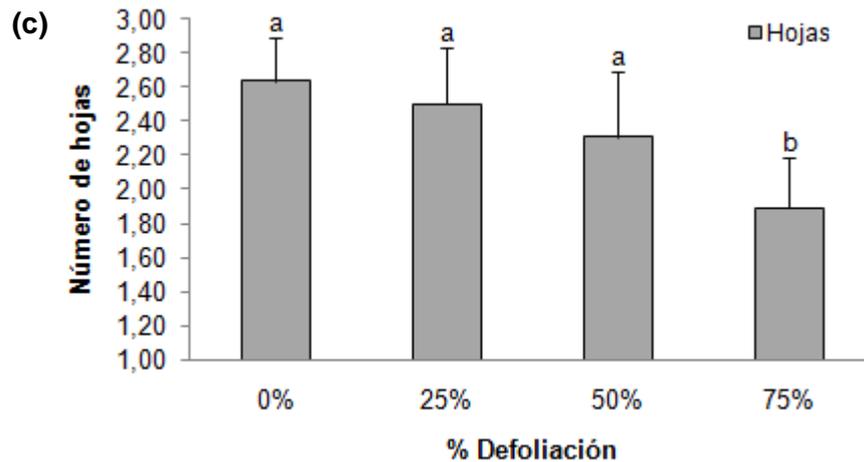
Variable	Factor	DF	SS	MS	F	P
Biomasa raíz	% defoliación	3	1,3078	0,4359	39,36	0,000
	Error	57	0,6313	0,0111		
	Total	60	1,9391			
Biomasa tallos	% defoliación	3	3,8609	1,2870	28,09	0,000
	Error	57	2,6114	0,0458		
	Total	60	6,4723			
Biomasa hojas	% defoliación	3	2,7890	0,9297	18,34	0,000
	Error	57	2,8892	0,0507		
	Total	60	5,6782			
Biomasa total	% defoliación	3	3,2150	1,0717	31,31	0,000
	Error	57	1,9513	0,0342		
	Total	60	5,1663			

## 6.2 Ensayo 2

### 6.2.1 Longitud máxima, número de tallos y hojas

Un menor crecimiento relativo a la longitud máxima y el número de hojas fue más evidente sobre las plantas que recibieron el 75% de defoliación artificial en relación al control (figura 21a, c). Por otra parte, no existió una reducción significativa sobre el número de tallos en ninguno de los tratamientos defoliativos con relación al control (figura 21b).

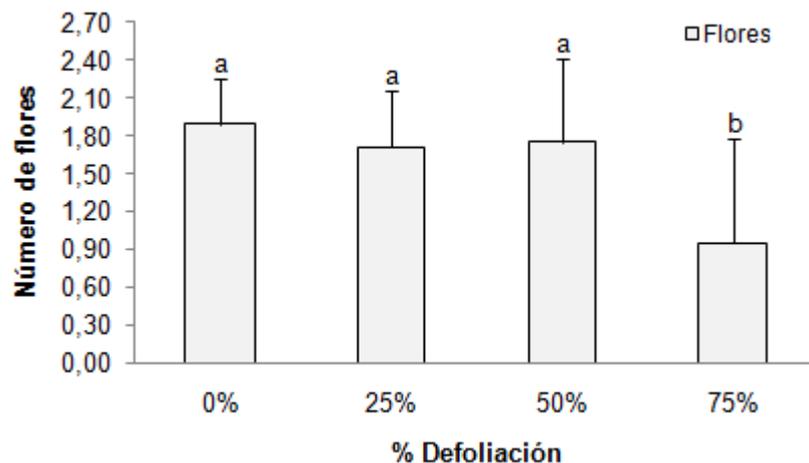




**Figura 21.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la longitud máxima, número de tallos y hojas de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa, entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

### 6.2.2 Número de flores

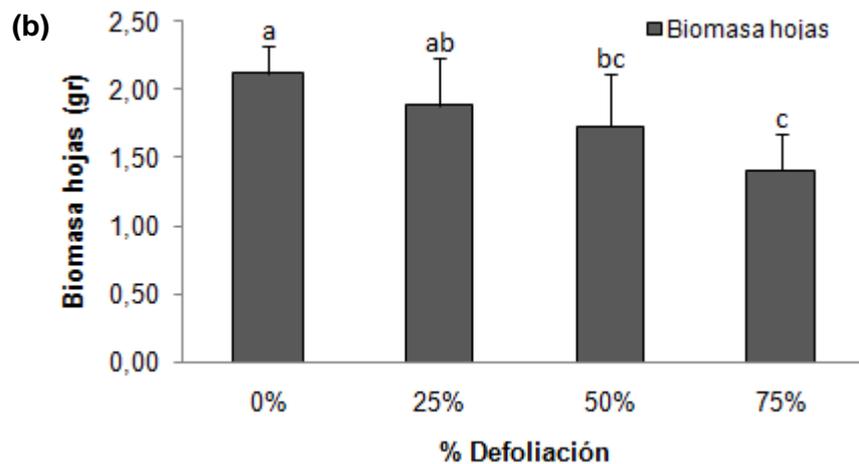
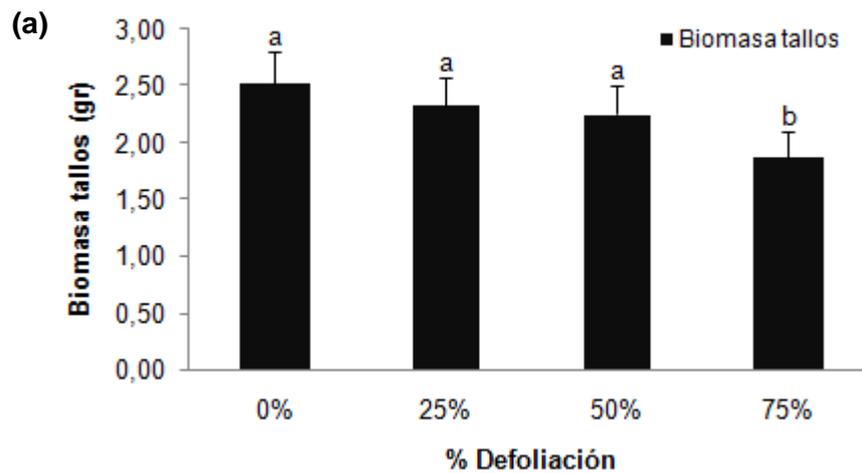
Un total de 35 plantas produjeron flores como sigue: 10 plantas para el tratamiento del 0% defoliación artificial, 10 del 25%, 9 del 50% y 6 del 75%. Una menor cantidad de flores, genera el 75% de defoliación artificial con relación al control (figura 22).

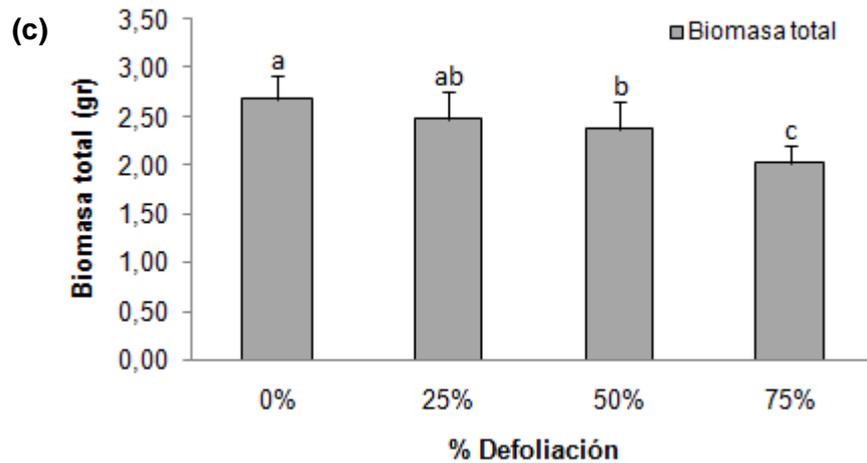


**Figura 22.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre el número de flores producidas por *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

## 62.3 Biomasa de tallos y hojas

La reducción de la biomasa de tallos fue más evidente sobre el 75% de defoliación artificial con relación al control (figura 23a) y sobre la biomasa de hojas la reducción empieza sobre defoliaciones artificiales >50% con relación al control (figura 23b). En general, la reducción de la biomasa aún se mantiene a través de los tratamientos >50% de defoliación artificial con respecto al control (figura 23c).

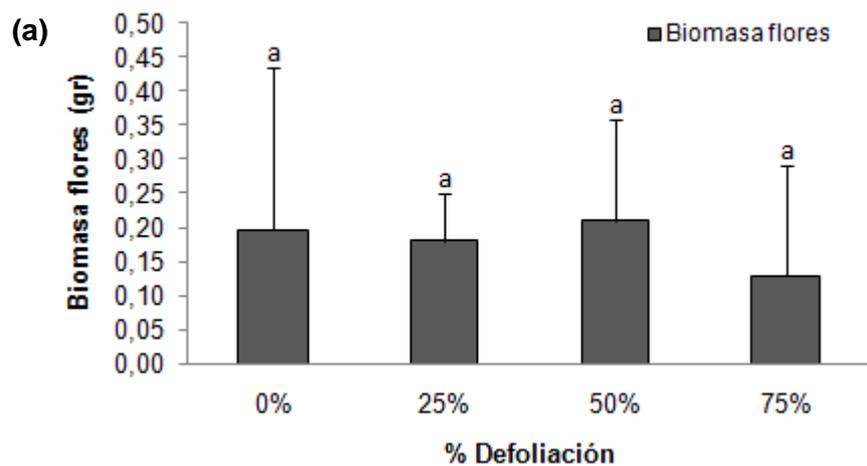


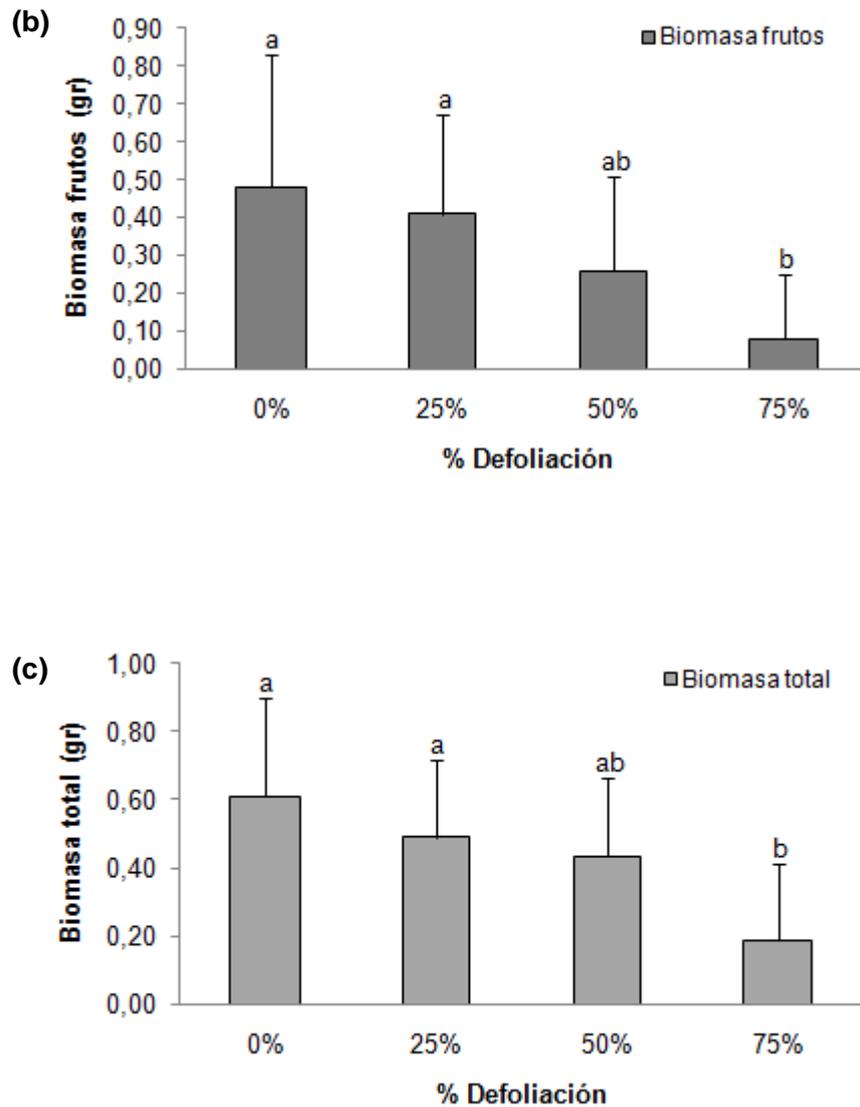


**Figura 23.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la inversión de biomasa de los tallos, hojas y biomasa total de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

#### 6.2.4 Biomasa de flores y frutos

Sobre la biomasa de flores no existió una reducción significativa sobre ninguno de los tratamientos defoliativos (figura 24a). En contraste, la biomasa de frutos evidenció reducción en plantas sometidas a defoliaciones artificiales >50% con respecto al control (figura 24b) y la biomasa total evidenció la misma tendencia (figura 24c).





**Figura 24.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la inversión de la biomasa de flores y frutos de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

Según el análisis de ANOVA, se detectaron diferencias sobre la longitud máxima y el número de hojas (tabla 3). Pero no para el número de tallos, número de flores y frutos (tabla 3). La biomasa de tallos, hojas y su respectivo total poseen diferencias (tabla 4). La biomasa de frutos evidenció diferencia, en contraste, la biomasa de flores indica que no existió diferencia (tabla 4). Por su parte, la biomasa total (suma biomasa flores y frutos) si indicó diferencia (tabla 4).

**Tabla 3.** Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 2. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento y reproducción las variables dependientes.

Variable	Factor	DF	SS	MS	F	P
<b>Longitud máxima</b>	% defoliación	3	0,17722	0,05907	6,29	0,002
	Error	36	0,33803	0,00939		
	Total	39	0,51525			
<b>Número tallos</b>	% defoliación	3	0,0465	0,0155	1,47	0,240
	Error	36	0,3798	0,0105		
	Total	39	0,4262			
<b>Número hojas</b>	% defoliación	3	3,188	1,063	10,48	0,000
	Error	36	3,650	0,101		
	Total	39	6,838			
<b>Número Flores</b>	% defoliación	3	5,440	1,813	4,98	0,005
	Error	36	13,100	0,364		
	Total	39	18,540			
<b>Número frutos</b>	% defoliación	3	4,428	4,428	2,45	0,080
	Error	36	21,717	0,603		
	Total	39	26,146			

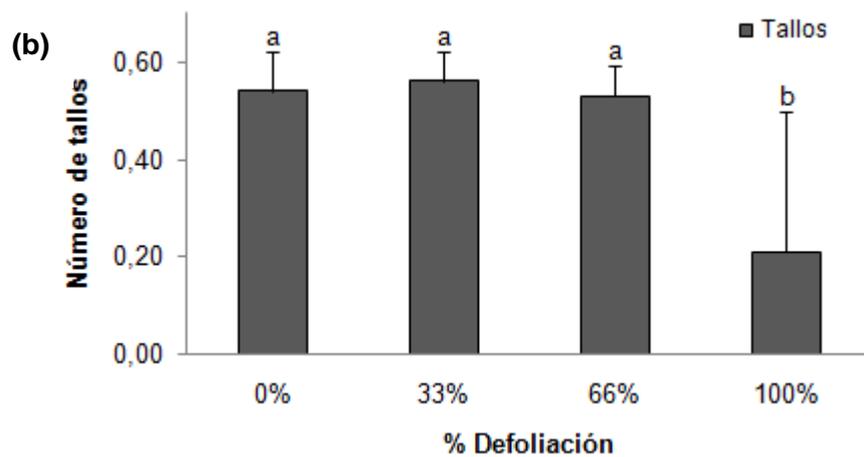
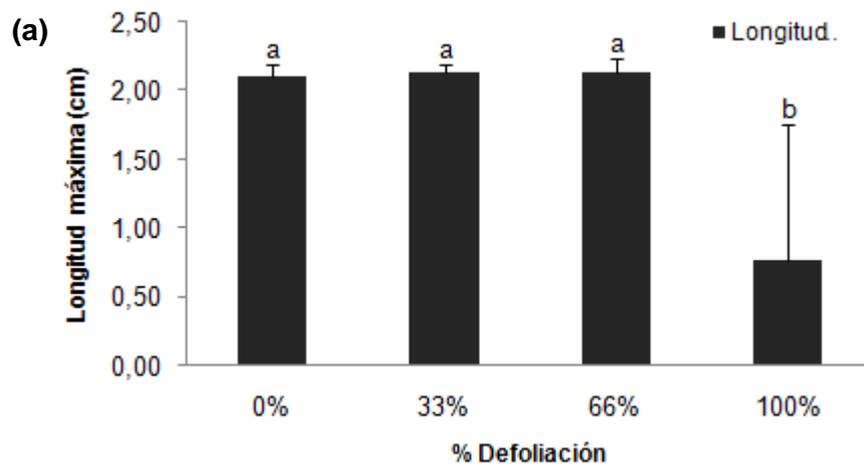
**Tabla 4.** Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 2. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento y reproducción las variables dependientes.

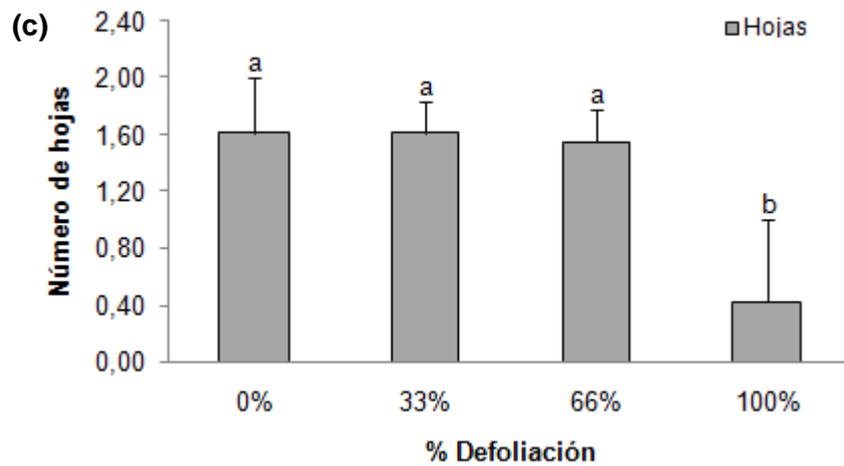
Variable	Factor	DF	SS	MS	F	P
<b>Biomasa tallos</b>	% defoliación	3	2,2914	0,7638	11,83	0,000
	Error	57	2,3236	0,0645		
	Total	60	4,6150			
<b>Biomasa hojas</b>	% defoliación	3	2,6260	0,8753	8,77	0,000
	Error	57	3,5917	0,0998		
	Total	60	6,2177			
<b>Biomasa total</b>	% defoliación	3	2,2869	0,7623	12,15	0,000
	Error	57	2,2596	0,0628		
	Total	60	4,5465			
<b>Biomasa flores</b>	% defoliación	3	0,0639	0,0213	0,66	0,580
	Error	57	1,1553	0,0321		
	Total	60	1,2192			
<b>Biomasa frutos</b>	% defoliación	3	0,9212	0,3071	4,39	0,010
	Error	57	2,5195	0,0700		
	Total	60	3,4407			
<b>Biomasa total</b>	% defoliación	3	0,9492	0,3164	5,38	0,004
	Error	57	2,1181	0,0588		
	Total	60	3,0672			

### 6.3 Ensayo 3

#### 6.3.1 Longitud máxima, número de tallos y hojas

Es evidente, que cuando las plantas fueron sometidas al 100% de defoliación artificial, la longitud máxima, número de tallos y hojas disminuyeron, notablemente, con respecto al control (figura 25 a, b, c).

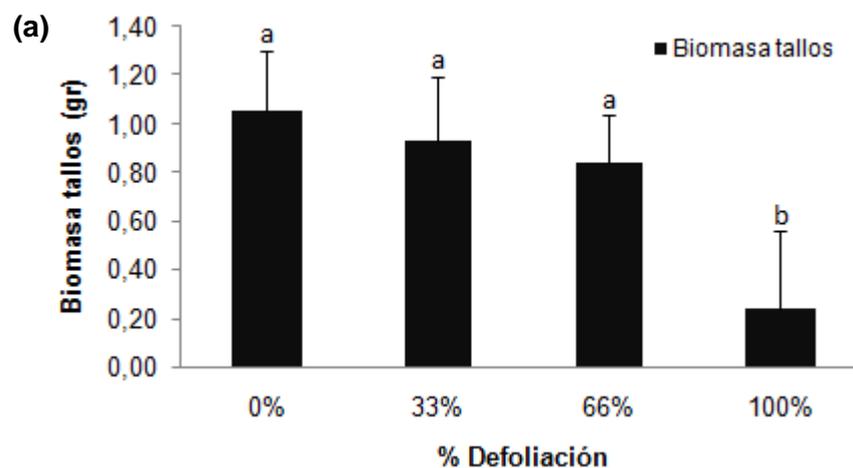


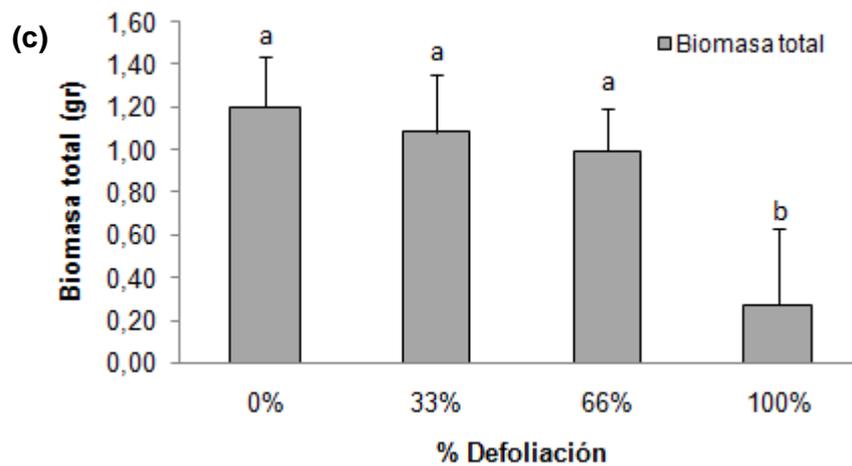
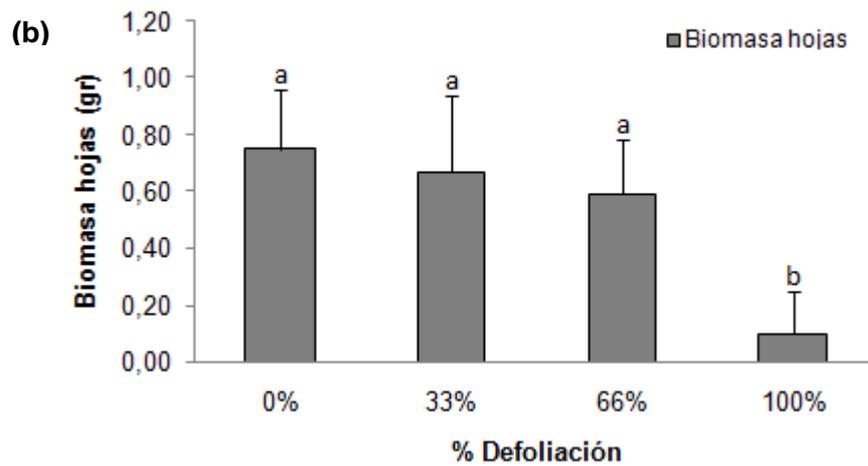


**Figura 25.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la longitud máxima, número de tallos y hojas de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

### 6.3.2 Biomasa de tallos y hojas

Notablemente, la reducción de la biomasa se evidenció al 100% de defoliación artificial con respecto al control (figura 26a, b) y, en general, la disminución de la biomasa aún se mantiene a través del 100% de defoliación artificial (figura 26c).





**Figura 26.** Efecto de la simulación de herbivoría sobre la biomasa de tallos, hojas y total de *R. niveus*. Las barras con las mismas letras encima indican que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos de defoliación artificial, según el test de Tukey. Los datos comparados son las medias (+S.E.) de los datos transformados con  $\log_{10}+1$ .

Según el análisis de ANOVA, no se detectaron diferencias significativas sobre la longitud máxima, número de hojas (tabla 5), biomasa de tallos, hojas y biomasa total (tabla 6).

**Tabla 5.** Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 3. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de crecimiento producción como las variables dependientes.

Variable	Factor	DF	SS	MS	F	P
Longitud máxima	% defoliación	3	13,767	4,589	17,84	0,000
	Error	35	9,003	0,257		
	Total	38	22,770			
Número tallos	% defoliación	3	0,8156	0,2719	11,02	0,000
	Error	35	0,8631	0,02470		
	Total	38	1,6787			
Número hojas	% defoliación	3	10,132	3,377	22,66	0,000
	Error	35	5,217	0,149		
	Total	38	15,3490			

**Tabla 6.** Resumen de los resultados del ANOVA de una vía para el ensayo 3. El nivel de defoliación artificial (% de defoliación) es el factor y los parámetros de producción como las variables dependientes.

Variable	Factor	DF	SS	MS	F	P
Biomasa tallos	% defoliación	3	3,8823	1,2941	18,77	0,000
	Error	35	2,4126	0,0689		
	Total	38	6,2949			
Biomasa hojas	% defoliación	3	2,5181	0,8394	19,37	0,000
	Error	35	1,5165	0,0433		
	Total	38	4,0347			
Biomasa total	% defoliación	3	5,2468	1,7489	22,87	0,000
	Error	35	2,6761	0,0765		
	Total	38	7,9229			

## CAPÍTULO 7

### DISCUSIÓN

Las defoliaciones artificiales mensuales, al 75%, durante 7 meses (ensayo 1); y, 5 meses (ensayo 2), indican un efecto negativo significativo, con respecto a: longitud máxima, número de hojas, número de flores, biomasa de raíz, tallos, hojas, flores y frutos. No obstante, el número de tallos no es afectado a este nivel de defoliación. Para el ensayo 3, las defoliaciones artificiales al 100%, durante 5 meses, indican un efecto negativo significativo, con respecto a: longitud máxima, número de hojas, número de tallos, biomasa de tallos y hojas. Además, existió una alta mortalidad de las plantas expuestas al 100% de defoliación artificial para los tres ensayos.

#### 7.1 Limitaciones del estudio

Este estudio de tesis se enfocó sobre procesos básicos de la planta como el crecimiento y reproducción de *R. niveus*; más no, sobre procesos que involucran interacciones bióticas complejas. Por ejemplo: la influencia de la saliva de los insectos sobre una planta, pueden inducirles a la liberación de químicos que pueden repeler los insectos ó a su vez, generar atracción de enemigos naturales hacia los insectos que se encuentren atacando la planta hospedera. De esta manera, muchas veces este tipo de respuestas de las plantas sólo se lograría usando la herbivoría natural (Hjaltén, 2004). Incluso a nivel de interacciones simples, la simulación de herbivoría podría tener dificultadas en obtener las respuestas deseadas (Hjaltén, 2004).

En la evaluación de 46 estudios de herbivoría natural y artificial, se encontró que el 85% de éstos, tuvieron diferencias significativas entre la respuestas obtenidas mediante defoliación artificial y natural, cuando se trató de interacciones complejas; en contraste, el 50% de los estudios difieren en sus respuestas cuando se trató del crecimiento y la reproducción de las plantas (Lehtilä & Boalt, 2004). Por lo tanto, es preciso realizar evaluaciones de herbivoría natural para *R. niveus* con el objetivo de conocer, si existe o no una diferencia grande con relación a la simulación de herbivoría.

Además, estos resultados deben ser comparados con estudios de herbivoría natural, ya que el daño artificial puede sobrestimar las respuestas generadas por un agente de control biológico, como en el caso del crisomélido *Zygogramma bicolorata* Pallister, donde la simulación de herbivoría sobrestimó el efecto generado por este agente de control sobre el crecimiento y reproducción de *Parthenium hysterophorus* L. (Raghu & Dhileepan, 2005) o en efecto subestimarlo.

Por otra parte, el espacio para el crecimiento de *R. niveus* sobre el ensayo 1, estuvo limitado debido a que las plántulas fueron sembradas en fundas; en contraste, para el ensayo 2, las plántulas fueron sembradas directamente al suelo, lo que permitió que se desarrollaran mejor, por ejemplo: se obtuvo una mayor cantidad de flores y frutos para este ensayo. Pero, no se produjeron flores ni frutos en las plantas del ensayo 3. Además, en ciertos meses las defoliaciones artificiales, para este ensayo, no pudieron ser completadas por la presencia de insectos.

Tanto para el ensayo 2 y 3, no se obtuvo la biomasa de la raíz, ya que la extracción de la misma no podía ser total, de allí que el resultado sea impreciso. Es posible que para el ensayo 3, debido a una combinación de factores, sus resultados sean menos contundentes.

El intervalo de 30 días para realizar las defoliaciones artificiales fue seleccionado de manera arbitraria, ya que se desconoce el tiempo de defoliación del agente de control biológico que ataca a nivel de hojas.

En general, las defoliaciones por insectos pueden generar que las plantas utilicen sus reservas nutritivas para mantener su desarrollo, lo que en efecto debilitaría las plantas (Hajek, 2004). Es decir, a pesar de no evidenciar diferencias significativas, bajo niveles de defoliación artificial que no generaron una afección negativa significativa sobre *R. niveus*, los efectos podrían ser más evidentes si las defoliaciones artificiales continuaran por más tiempo debilitando más a esta especie invasora.

## **7.2 Umbral y compensación por el daño infringido**

El objetivo de los proyectos de biocontrol contra malezas terrestres es reducir la densidad de la planta invasora para debilitar su potencial reproductivo y su capacidad de competir con las especies nativas (Zwolfer & Zimmermann, 2004).

No obstante, las plantas pueden sobrevivir a cierto nivel de daño, utilizando reservas almacenadas que les permitan compensar el daño; de allí que, el control biológico de malezas se basa en umbrales de daño por encima de los cuales, las plantas no podrán compensarlo incrementando el riesgo de muerte (Hajek, 2004). De esta manera, se explicará las respuestas generadas por *R. niveus* a la simulación de herbivoría, mediante los términos de tolerancia y compensación completa e insuficiente, que serían los grados de tolerancia (Strauss & Agrawal, 1999) que se evidenciaron para *R. niveus* y, además, con el umbral de daño evidenciado para este estudio.

### **7.3 Tolerancia y compensación por *R. niveus***

En general, *R. niveus* puede tolerar ciertos niveles de defoliación artificial, como indican las diferencias no significativas tanto para su crecimiento y reproducción con respecto al control de los tres ensayos. Esto puede ser debido a que *R. niveus* puede recuperarse del daño, usando reservas almacenadas en su sistema de raíces como lo ocurrido con la liana invasora *Macfadyena unguis-cati* L. (Raghu *et al*, 2006) y así como para *R. niveus*, también fue necesario realizar altos niveles de defoliación artificial para observar efectos negativos en el desarrollo de las plantas. En otro estudio, usando la simulación de herbivoría para conocer las respuestas de plántulas sobre el desarrollo del árbol introducido *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. encontraron que el daño infringido a nivel de hojas generó tolerancia en esta especie (Rogers & Siemann, 2002).

En el ensayo 1 y 2, *R. niveus* puede compensar el daño infringido de una manera completa, a niveles de defoliación artificial, menores al 50% y mayores a este nivel. Se evidencia una compensación insuficiente en términos de longitud, número de hojas, número de flores y biomasa de tallos, hojas y frutos, aunque, en el caso del número de flores (figura 19), biomasa de raíz (figura 20a) y biomasa de flores (figura 24a) *R. niveus* compensa insuficientemente desde el 25% de defoliación artificial. Para el ensayo 3, *R. niveus* tiene una compensación completa a niveles menores al 100% de defoliación artificial en términos de: longitud, número de hojas y biomasa de tallos y hojas. Por último, debido a que existe una diferencia leve del número de tallos con respecto al control (figuras 18b, 21b, 25b) para todos los ensayos, *R. niveus* puede compensar completamente por el daño infringido.

De alguna manera, para contrastar en conjunto lo expuesto se hace referencia al estudio de Broughton (2003), donde la simulación de herbivoría es evaluada mediante defoliaciones artificiales al 50% y 100% cada tres meses, mostrando que todas las plantas de *L. camara* incrementaron en altura y produjeron más tallos. Además, sobre la biomasa de raíz, tallos y hojas los niveles de defoliación no fueron significativos, por ejemplo: como la biomasa de hojas no tuvo una diferencia significativa entre tratamientos, *L. camara* puede compensar por el daño, produciendo nuevas hojas (en este estudio se usa el término compensación de una manera general).

En el caso de un estudio de simulación de herbivoría a nivel de hojas para pastos, se evidenció que la biomasa de la raíz se reduce al remover las hojas (Sorensen, Mikola, & Kytoviita, 2008). El mismo efecto se evidencia para *R. niveus* donde defoliaciones artificiales mayores al 50% reducen la biomasa de la raíz, indicando que los recursos en el sistema de raíces de *R. niveus* se agotan. Lo cual también fue evidente sobre la biomasa del tubérculo de *M. unguis-cati* con defoliaciones artificiales al 75%-100% y de la misma forma sucede con la altura del tallo (Raghu *et al*, 2006), que para este estudio el tallo fue medido como longitud. Es decir, que si las raíces son más pequeñas la adquisición de agua y nutrientes podrá ser limitada (Tiffin, 2000)

Con relación al ensayo 1 y 2, a pesar de que las defoliaciones artificiales disminuyen el número de flores y frutos, mientras mayor sea el nivel de defoliación, *R. niveus* puede seguir reproduciéndose de manera sexual (mediante semillas). Aún más, indica que esta especie sigue invirtiendo recursos para generar estructuras reproductivas. Además, al momento de la cosecha se evidenció que la mayoría de plantas al 50% y 75% de defoliación artificial poseían frutos verdes de menor tamaño en comparación al 25% y 0% de defoliación artificial que poseían algunos frutos semi-maduros. Indicando, de alguna forma, que existió una variación individual ya que las plantas del 0% y el 25% florecieron mucho más temprano. Broughton (2003), reporta que las plantas de *L. camara*, aparentemente, florecieron en distinto tiempo.

De la misma forma, debido a la disminución inexistente en el número de tallos de *R. niveus* continuará reproduciéndose de manera asexual. No obstante, se evidencia que mientras mayor es el nivel de defoliación, la biomasa de los tallos se reduce; lo que indica que los tallos que se producen son menos vigorosos (figuras 20b, 23a,

26a). Pero, no excluye la posibilidad de que *R. niveus* continúe reproduciéndose mediante esta estructura vegetal

#### **7.4 Interacciones bióticas y abióticas**

El desarrollo y la habilidad compensatoria de las plantas pueden variar por factores bióticos y abióticos; así como con la edad o fase fenológica de la planta (Wirf, 2006). En este sentido, para el ensayo 1 se usaron plántulas donde la disponibilidad de agua no fue una limitante ya que recibían la misma cantidad de agua hasta la finalización del mismo. Estas plántulas fueron mantenidas en condiciones de sombra media (umbráculo). De igual manera, para el ensayo 2 se usaron plántulas que fueron sembradas directamente al suelo en condiciones totales de luz; en este sentido, estas plántulas podrían haber estado compitiendo en mayor medida por agua, luz, nutrientes y espacio para su desarrollo, generando competencia interespecífica.

Posiblemente, las plantas que murieron en el ensayo 1 (50% y 75%) fue por la presencia de hongos. Sin embargo, se sabe que cuando un insecto se alimenta de alguna parte vegetal de la planta puede permitir el ingreso de patógenos mediante las heridas dejadas por el insecto (Hajek, 2004). Aunque este efecto aún no es claro para *R. niveus* en Galápagos debido a la ausencia de estudios. También, existió la presencia de insectos que no generaron problemas por la aplicación de insecticida.

El ensayo 3 se llevó a cabo con plantas juveniles que estuvieron rodeadas de *C. odorata*, generando que la entrada de luz y agua no sea igual que un área despejada. Por último, se dio el ataque inesperado de insectos fitófagos que se alimentaron de *R. niveus* a nivel de hojas, hecho que ocurrió desde el mes de junio hasta septiembre (mes de la cosecha). El ataque fue más intenso en el mes de julio y agosto, cuando muchas plantas no poseían hojas, lo cual no permitió realizar las defoliaciones. Además, el clima es más frío en “El Occidente” que en Bellavista.

#### **7.5 Implicaciones para el biocontrol de *R. niveus***

Según este estudio, el umbral de daño para el control de *R. niveus* en relación a su crecimiento y reproducción, se produciría al aplicar niveles de defoliación artificial mayores al 50%. En el estudio de Raghu *et al* (2006) con *M. unguis-cati*, sugiere

que los herbívoros especialistas dentro del gremio de insectos que se alimentan de hojas, podrían ser deseables en el control biológico de esta maleza, si fueran capaces de remover sobre el 50% de las hojas. El agente de control biológico debe infringir un daño dentro de este umbral para prevenir o disminuir el desarrollo de *R. niveus*. De esta forma, las especies de plantas nativas y endémicas de Galápagos podrán germinar y crecer mejor ya que, en un sentido, la entrada de luz mejoraría en el bosque por la disminución de la cobertura vegetal de *R. niveus*, aunque, este cambio es un proceso lento y gradual.

Sin embargo, este umbral no cesaría la producción de flores y frutos para *R. niveus*. El estudio de Rentería (2011) muestra que una parte importante en el ciclo de vida de *R. niveus* que le otorga una ventaja competitiva, es la producción de una gran cantidad de semillas que en conjunto con la dispersión de estas por aves permitiría seguir ampliando su distribución; además, de su gran capacidad de crecimiento.

Aún más, si el agente de control biológico causa defoliaciones totales (100%) generaría el estrés suficiente para causar la muerte de *R. niveus* (figura 17). Raramente, los agentes de control biológico matan las plantas de manera directa, pero puede ocurrir que si los enemigos naturales aumentan su número, considerablemente, podrían consumir todo el follaje de una planta, por ejemplo: los árboles de roble pueden generar nuevas hojas después de un evento de defoliación, pero las coníferas mueren si son completamente defoliadas (Hajek, 2004).

Por estas razones, el control de *R. niveus* de un solo agente que ataque a nivel de hojas podría ser parcial. Generalmente, el éxito en los proyectos de control biológico para malezas aumenta con el número de agentes liberados (Denoth *et al*, 2002). En efecto, futuras evaluaciones podrían determinar, si otros tipos de herbívoros podrían potencialmente regular el crecimiento y reproducción de *R. niveus*. Mediante la simulación de herbivoría podrían realizarse evaluaciones para conocer el efecto individual y combinado de distintos gremios de insectos, por ejemplo: Raghu *et al* (2006), examinó el efecto combinado e individual mediante simulación de herbivoría infringiendo daño a nivel de hojas, raíz y tubérculos de *M. unguis-cati*.

Por otra parte, si se realizaran evaluaciones de herbivoría natural con un insecto que se alimente a nivel de hojas, los resultados de los experimentos de este estudio

podrían ser considerados como una hipótesis que permitirían comparar las respuestas de *R. niveus* con la herbivoría natural. Las evaluaciones pueden ser hechas cuando el o los enemigos naturales sean importados a Galápagos, para poder ser valorados sobre condiciones de cuarentena.

El control biológico de malezas busca agentes de control biológico que sean específicos y eficaces para el control de la planta hospedera. En este sentido, podría ser que agentes que afecten a nivel de flores y/o semillas implicaría daño a partes vitales para el éxito de invasión de *R. niveus*. Por otra parte, la idea de introducir fitopatógenos es una idea muy atractiva debido a su alta especificidad. Un género muy utilizado para el control de *Rubus* spp. es *Pragmidium* spp. Cualquiera sea el caso, siempre se debe considerar los riesgos potenciales de los proyectos.

Dentro del control biológico de malezas existen dos características importantes al momento de seleccionar enemigos naturales para ser liberados: la especificidad del hospedero y la habilidad de los enemigos naturales de responder a la población de la maleza en un sentido donde dependería de la densidad de ésta (Hajek, 2004). Sin embargo, este estudio permitió evaluar la eficacia del agente que bien podría ser añadida a estas características. En esta línea, el método de la simulación de herbivoría permite poner un filtro de eficacia, antes de continuar con las pruebas de especificidad del hospedero que deberían ser hechas, una vez que se ha dado prioridad a cierto gremio de insectos con la posibilidad de evaluar su eficacia y así disminuir la liberación de agentes inefectivos (Raghu & Dhileepan, 2005).

## CONCLUSIONES

Hasta cierto punto, la simulación de herbivoría permitió comprender las respuestas de *R. niveus* por agentes de control biológico que se alimentan a nivel de hojas, teniendo en cuenta que estas respuestas pueden variar sobre diferentes especies de insectos dentro del mismo gremio.

Las interpretaciones con respecto a los resultados del estudio deben ser comparados mediante evaluaciones, usando los herbívoros naturales para poder saber si las diferencias son muy grandes con respecto a la simulación de herbivoría.

Las respuestas de la simulación de herbivoría obtenidas bajo condiciones controladas y semi-controladas fueron más contundentes que las realizadas bajo condiciones naturales. Sin embargo, no se debe excluir la realización de experimentos bajo condiciones naturales de simulación de herbivoría.

Como una respuesta general a la simulación de herbivoría, se sugiere que el umbral de daño para el control de *R. niveus* es mayor al 50%, considerando que la evaluación actual fue realizada en el corto plazo. Por lo tanto, para observar un efecto negativo significativo sobre el desarrollo de la planta, es necesario que el agente de control biológico genere daños sobre la población de *R. niveus* defoliando las plantas a un nivel del 75%. Entonces, como guía se sugiere que para la selección de agentes defoliadores, por lo mínimo, estos deben ser capaces de causar daño a niveles de defoliación mayores al 50%.

## RECOMENDACIONES

En lo posible, realizar evaluaciones mediante la simulación de herbivoría con los otros gremios de insectos que fueron encontrados hospedando *R. niveus* en su rango nativo, con el objetivo de conocer sus efectos combinados o individuales. De esta manera, si se realizan evaluaciones simulando varios gremios de insectos, se podría conocer si la introducción de uno o varios agentes sería lo ideal para el control de *R. niveus*

Además, sería mejor realizar las evaluaciones de simulación de herbivoría en Galápagos, para poder considerar interacciones que podrían no estar presentes en el rango nativo de la planta. Como el caso que ocurrió sobre el ensayo 3 donde se evidenció, por primera vez, que los insectos que se estaban alimentando de la planta y en conjunto con otros factores, pudieron generar resultados confusos. Por lo tanto, se necesitaría rehacer este ensayo bajo mejores condiciones de agua, luz y temperatura.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADSERSEN, H. (1994). Plantas amenazadas en Galápagos. En A. Carrasco, & H. Valdebenito (Edits.), *Memorias del Taller sobre Investigación Botánica y Manejo en Galápagos realizado en abril 11-18 de 1987 (versión en Español)* (págs. 12-16). Puerto Ayora.
- ADSERSEN, H. (1989). The rare plants of the Galápagos Island and their conservation. *Biological Conservation* , 47(1), 49-77.
- AGRAWAL, A. A. (2000). Benefits and costs of induced plant defence for *Lepidium virginicum* (Brassicaceae). *Ecology* , 81 (7), 1804-1813.
- AGRAWAL, A. A., & KURASHIGE, N. S. (2003). A role for isothiocyanates in plant resistance against the specialist herbivore *Pieris rapae*. *Journal of Chemical Ecology* , 29 (6), 1403-1415.
- AGRAWAL, A. A., CONNER, J. K., JOHNSON, M. T., & WALLSGROVE, R. (2002). Ecological genetics of an induced plant defence against herbivores: additive genetic variance and costs of phenotypic plasticity. *Evolution* , 56 (11), 2206-2213.
- ATKINSON, R., RENTERÍA, J., & CARRIÓN, V. (2008). *Control de la Mora (Rubus niveus) en Santiago: Reporte Técnico de la Fundación Charles Darwin y del Servicio Parque Nacional Galápagos*. Fundación Charles Darwin, Departamento de Botánica. Puerto Ayora: FCD y SPNG.
- BADILLA, F. (2002). Un programa exitoso de control biológico de insectos plaga de la caña de azúcar en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* , 64, 77-87.
- BALDWIN, I. T. (1990). Herbivory simulations in Ecological Research. *TREE* (3), 91-93.
- BAÑUELOS, M. J., SIERRA, M., & OBESO, J. R. (2004). Sex, secondary compounds and asymmetry. Effects on plant-herbivore interaction in a dioecious shrub. *Acta Oecologica* , 25 (3), 151-157.
- BARRERA, J. F. (2007). Introducción, filosofía y alcance del control biológico. En L. A. Rodríguez, & H. C. Arredondo (Edits.), *Teoría y aplicación del control biológico* (Primera edición ed., págs. 1-18). Mexico : Sociedad Mexicana de Control Biológico
- BLANTON, C. (1995). Historia de la Estación Científica Charles Darwin: Ciencia al servicio de la conservación. En G. Zizka, & K. Klemmer (Edits.), *Flora y Fauna de las Islas Galápagos-origen, investigación, amenazas y protección* (págs. 100-108).
- BROUGHTON, S. (2003). Effect of artificial defoliation on growth and biomass of *Lantana camara* L. (Verbenaceae). *Plant Protection Quarterly* , 18 (3), 110-115.

- BUDDENHAGEN, C. E. (2006). The successful eradication of two blackberry species *Rubus megalococcus* and *R. adenotrichos* (Rosaceae) from Santa Cruz Island, Galapagos, Ecuador. *Pacific Conservation Biology* , 12 (4), 272-278.
- BUDDENHAGEN, C. E., & JEWELL, K. J. (2006). Invasive plant seed viability after processing by some endemic Galapagos birds. *Ornitología Neotropical* , 80 (1), 73-80.
- BUDDENHAGEN, C. E., & YÁNEZ, P. (2005). The cost of quinine *Cinchona pubescens* control on Santa Cruz Island, Galapagos. *Galapagos Reserach* (63), 32-36.
- CAMPBELL, K., DONLAN, J., CRUZ, F., & CARRIÓN, V. (2004). Eradication of feral goats *Capra hircus* from Santa Cruz Island, Galapagos, Ecuador. *Oryx* , 38 (3), 328-333.
- CAUSTON, C. E., LINCANGO, M. P., & POULSOM, G. A. (2004). Feeding range studies of *Rodolia cardinalis* (Mulsant), a candidate biological control agent of *Icerya purchasi* Maskell in the Galapagos islands. *Biological Control* , 29 (3), 315-325.
- COLPETZER, K., HOUGH-GOLDSTEIN, J., HARKINS, K. R., & SMITH, M. T. (2004). Feeding and oviposition behavior of *Rhinoncomimus latipes* Korotyaev (Coleoptera: Curculionidae) and its predicted effectiveness as a biological control agent for *Polygonum perfoliatum* L. (Polygonales: Polygonaceae). *Environmental Entomology* , 33 (4), 990-996.
- DAY, M. D., WILEY, C. J., PLAYFORD, J., & ZALUCKI, M. P. (2003). *Lantana: Current Management Status and Future Prospects*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
- de VRIES, T., & CALVOPIÑA, L. (1977). Papel de los chivos en los cambios de la vegetación de la isla San Salvador. *Revista de la Universidad Católica* , 5, 145-169.
- DENOTH, M., FRID, L., & MYERS, J. (2002). Multiple agents in biological control: improving the odds?. *Biological Control* , 24 (1), 20-30.
- EILENBERG, J., HAJEK, A., & LOMER, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol* , 46 (4), 387-400.
- ELLISON, C. A., & BARRETO, R. W. (2004). Prospects for the management of invasive alien weeds using co-evolved fungal pathogens: a Latin American perspective. *Biological Invasions* , 6 (1), 23-45.
- Fundación Charles Darwin y Dirección del Parque Nacional Galápagos. (2009). *Diagnóstico y planificación para el desarrollo de un agente de control biológico para *Rubus niveus* en las islas Galápagos*. Informe técnico, Puerto Ayora, Santa Cruz, Galápagos, Ecuador.
- GARDENER, M. R., ATKINSON, R., & RENTERÍA, J. L. (2010). Eradications and people: Lessons from the plant eradication program in Galapagos. *Restoration Ecology* , 18 (1), 20-29.

- GOOLSBY, J. A., ZONNEVELD, R., & BOURNE, A. (2004). Prerelease assessment of impact on biomass production of an invasive weed, *Lygodium microphyllum* (Lygodiaceae: Pteridophyta), by a potential biological control agent, *Floracarus perrepae* (Acariformes: Eriophyidae). *Environmental Entomology*, 33 (4), 997-1002.
- GUERRERO, A. M. (2002). *El rol de las aves en el proceso de dispersión de semillas de plantas nativas e introducidas en Santa Cruz-Galápagos*. Tesis de grado, Quito, Universidad Central del Ecuador.
- HAJEK, A. E. (2004). *Biology and ecology of agents used for biological control of weeds*. Cambridge: University Press.
- HJÄLTÉN, J. (2004). Simulating herbivory: problems and possibilities. En W. W. Wolfgang, & E. Siemann, *Insects and ecosystem function* (Vol. 173, págs. 243-255). Berlin: Springer.
- JÄGER, H. (1999). *Impact of the introduced tree Cinchona pubescens VAHL. on the native flora of the highlands of Santa Cruz Island*. Tesis de grado, Alemania, Universität Oldenburg.
- KEANE, R. M., & CRAWLEY, M. J. (2002). Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 17 (4), 164-170.
- LANDÁZURI, O. (2002). *Distribución fenológica reproductiva y dinámica del banco de semillas de mora (Rubus niveus Thunb) en la parte alta de la isla Santa Cruz, Galápagos*. Tesis de grado, Quito, Universidad Central del Ecuador.
- LAWESSON, J. (1994). Plantas exóticas en las Islas Galápagos, un resumen. En A. Carrasco, & H. Valdebenito (Edits.), *Memorias del Taller sobre Investigación Botánica y Manejo en Galápagos, abril 11-18 de 1987 (versión en Español)* (págs. 17-23). Puerto Ayora, Santa Cruz, Ecuador: Fundación Charles Darwin.
- LAWESSON, J., & ORTIZ, L. (1994). Plantas introducidas en las islas Galápagos. En *Memorias del Taller sobre Investigación Botánica y Manejo en Galápagos realizado en Abril 11-18 de 1987 (versión en Español)* (págs. 224-235).
- LEHTILÄ, K., & BOALT, E. (2004). The use and usefulness of artificial herbivory in plant-herbivore studies. En W. W. Wolfgang, & E. Siemann, *Insects and Ecosystem Function* (Vol. 17, págs. 257-275). Berlin: Springer.
- LOUDA, S. M., KENDALL, D., CONNOR, J., & SIMBERLOFF, D. (1997). Ecological effects of an insect introduced for the biological control of weeds. *Science*, 277 (5329), 1088-1090.
- MACK, R. N. (2001). Motivations and consequences of the human dispersal of plants. En J. A. McNeely, *The Reshuffling: Human dimensions in invasive alien species* (págs. 23-34). IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- MAUCHAMP, A., & ATKINSON, R. (2010). Pérdida de hábitat rápida, reciente e irreversible: los bosques de *Scalesia* en las Islas Galápagos. En *Informe Galápagos 2009-2010* (págs. 111-114). Puerto Ayora, Galápagos, Ecuador.

- MCCLAY, A. S., & BALCIUNAS, J. 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 (3), 197-207.
- MCFADYEN, R. E. (1998). Biological control of weeds. *Annual Review of Entomology* , 43 (1), 369-393.
- MOLL, E. (1990). *Informe sobre la distribución de plantas introducidas en la isla Santa Cruz, Galápagos*. Puerto Ayora: Estación Científica Charles Darwin.
- MYERS, J. H., HIGGINS, C., & KOVACS, E. (1989). How many insect species are necessary for the biological control of insects?. *Environmental Entomology* , 18 (4), 541-547.
- PEARSON, D. E., & CALLAWAY, R. M. (2003). Indirect effects of host-specific biological control agents. *Trends in Ecology and Evolution* , 18 (9), 456-561.
- PORTER, D. M. (1983). Vascular plants of the Galapagos: Origins and dispersal. En R. Bowman, M. Berson, & A. Leviton (Edits.), *Patterns of evolution in Galapagos organisms* (págs. 33-54). California: Allen Press.
- PYSEK, P., RICHARDSON, D. M., REJMÁNEK, M., WEBSTER, G. L., WILLIAMSON, M., & KIRSCHNER, J. (2004). Alien plants in checklist and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists. *Taxon* , 53 (1), 131-143.
- RAGHU, S., & DHILEEPAN, K. (2005). The value of simulating herbivory in selecting effective weed biological control agents. *Biological Control* , 34 (3), 265-273.
- RAGHU, S., DHILEEPAN, K., & TREVIÑO, M. (2006). Response of an invasive liana to simulated herbivory: implications for its biological control. *Acta Oecologica* , 29 (3), 335-345.
- RENTERÍA, J. L. (2002). *Ecología y manejo de la cascarilla (Cinchona pubescens Vahl), en Santa Cruz, Galápagos*. Tesis de grado, Loja, Universidad Nacional de Loja.
- RENTERÍA, J. L. (2011). *Towards an optimal management of the invasive plant Rubus niveus in the Galapagos Islands*. Tesis Doctoral, England, Imperial College London.
- RENTERIA, J. L., & BUDDENHAGEN, C. E. (2006). Invasive plants in the *Scalesia pedunculata* forest at Los Gemelos, Santa Cruz, Galapagos. *Galapagos News* , 64, 31-35.
- RENTERÍA, J. L., ATKINSON, R., & BUDDENHAGEN, C. (2007). *Estrategias para la erradicación de 21 especies de plantas*. Informe técnico, Departamento de Botánica, Puerto Ayora.
- ROGERS, W. E., & SIEMANN, E. (2002). Effects of simulated herbivory and resource availability on native and invasive exotic tree seedlings. *Basic Applied Ecology* , 3 (4), 297-307.

- ROMOLEROUX, K. (1996). *Flora of Ecuador: Rosaceae* (Vol. 56). (G. Harling, & L. Andersson, Edits.). Quito: PUCE.
- ROOM, P. M. (1990). Ecology of a simple plant-herbivore system: biological control of *Salvinia*. *Tree* , 5 (3), 74-79.
- ROSENZWEIG, M. L. (2001). Loos of speciation rate will impoverish future diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , 98 (10), 5404-5410.
- SHEPPARD, A. W. (2003). Prioritising agents based on predicted efficacy: Beyond the lottery approach. En H. S. Jacob, & D. T. Briese, *Improving the selection, testing and evaluation of weed biological control agents* (págs. 11-21). Australia: CRC for Australian Weed Management.
- SORENSEN, L. I., MIKOLA, J., & KYTOVIITA, M. M. (2008). Defoliation effects on plant and soil properties in an experimental low arctic grassland community - the role of plant community structure. *Soil Biology and Biochemistry* , 40 (10), 2596-2604.
- SORIA, M. C., GARDENER, M. R., & TYE, A. (2002). Eradication of potentially invasive plants with limited distributions in the Galapagos Islands. En C. R. Veith, & M. N. Clout (Edits.), *Turning the tide: eradication of invasive species* (págs. 287-292). Switzerland and Cambridge: IUCN SSC Invasive Species Specialist Group.
- SORIA, M. (2006). *Avian seed dispersers of the invasive Rubus niveus (Rosaceae) in Santa Cruz Island*. Tesis de maestría, University of Missouri-St Louis
- STRAUSS, S. Y., & AGRAWAL, A. A. (1999). The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Tree* , 14 (5), 179-185.
- TIFFIN, P. (2002). Competition and time of damage affect the pattern of selection acting on plant defense against herbivores. *Ecology* , 83 (7), 1981-1990.
- TIFFIN, P. (2000). Mechanisms of tolerance to herbivore damage: what do we know? *Evolutionary Ecology* , 14 (4-6), 523-536.
- TIFFIN, P., & INOUE, B. D. (2000). Measuring tolerance to herbivory: accuracy and precision of estimates made using natural versus imposed damage. *Evolution* , 54 (3), 1024-1029.
- TRUEMAN, M., ATKINSON, R., GUÉZOU, A., & WURM, P. (2010). Residence time and human-mediated propagule pressure at work in the alien flora of Galapagos. *Biological invasions* , 12 (12), 3949-3960.
- TURLINGS, T. C., TUMLINSON, J. H., & LEWIS, J. W. (1990). Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* , 250 (4985), 1251-1253.
- TYE, A. (2007a). Cost of rapid-response eradication of a recently introduced plant, tropical Kudzu (*Pueraria phaseoloides*), from Santa Cruz Island, Galapagos. *Plant Protection Quarterly* , 22 (1), 33-34.

- TYE, A. (2007b). La flora endémica de Galápagos: aumentan las especies amenazadas. En *Informe Galápagos 2006-2007* (págs. 101-107). Puerto Ayora, Santa Cruz, Galapagos.
- VALDEBENITO, H. (1995). Vegetación de las Islas Galápagos y su alteración por acción del hombre. *Kleine Senckenbergreihe* (20), 44-53.
- VAN DRIESCHE, R. G., HODDLE, M. S., & CENTER, T. D. (2007). *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*. (E. Ruiz, & J. Blanca, Trads.) Estados Unidos: The Forest Health Technology Enterprise Team (FHTET).
- VILLA, A., & SEGARRA, P. (2010). El cambio histórico del uso del suelo y cobertura vegetal en el área rural de Santa Cruz y San Cristobal. En *Informe Galápagos 2009-2010* (págs. 85-92). Puerto Ayora, Galápagos, Ecuador: FCD, PNG y Consejo de Gobierno de Galápagos.
- VOELCKEL, C., & BALDWIN, I. T. (2004). Herbivore-specific transcriptional responses and their research potential for ecosystem studies. En W. W. Wolfgang, & E. Siemann, *Insects and Ecosystem Function* (Vol. 173, págs. 357-379). Berlin: Springer.
- WALLING, L. L. (2000). The myriad plant responses to herbivores. *Journal of Plant Growth Regulation*, 19 (2), 195–216.
- WATERHOUSE, D. F., & NORRIS, K. R. (1987). *Biological control: pacific prospects*. Melbourne: Inkata Press.
- WATSON, J., TRUEMAN, M., TUFET, M., HENDERSON, S., & ATKINSON, R. (2010). Mapping terrestrial antropogenic degradation on the inhabited islands of the Galapagos Archipelago. *Oryx*, 44 (1), 79-82.
- WIGGINS, I. L., & PORTER, D. M. (1971). *Flora of the Galápagos Islands*. California: Stanford University Press.
- WIRF, L. (2006). Using simulated herbivory to predict the efficacy of a biocontrol agent: the effect of manual defoliation and *Macaria pallidata* Warren (Lepidoptera: Geometridae) herbivory on *Mimosa pigra* seedlings. *Australian Journal of Entomology*, 45 (4), 324-326.
- ZAPATA, C. E. (2007). Evaluación del SICGAL, 7 años después. En F. C., *Informe Galápagos 2006-2007* (págs. 60-66). Puerto Ayora.
- ZIZKA, G. (1995). Flora pteridológica y fanerogámica de las islas Galápagos. En G. Zizka, & K. Klemmer (Edits.), *Flora y fauna de las Islas Galápagos-origen, investigación, amenazas y protección* (págs. 64-75).
- ZWOLFER, H., & ZIMMERMANN, H. (2004). The potential of phytophagous insects in restoring invaded ecosystems: examples from biological weed control. En W. W. Wolfgang, & E. Siemann, *Insects and Ecosystem Function* (págs. 135-153). Berlin: Springer.
- HEARD (Hawaiian Ecosystems at Risk Project ). (s.f.). *Especies invasoras de Galápagos*. Recuperado el 05 de 01 de 2012, de <http://www.hear.org/galapagos/invasoras/temas/bioseguridad/cuarentena.htm>.

HODDLE, M. (2009). *Biocontrol of Icerya with Rodolia in the Galapagos*. Recuperado el 12 de 01 de 2012, de biocontrol.ucr.edu: [http://biocontrol.ucr.edu/rodolia/rodolia\\_icerya\\_biocontrol\\_galapagos.html](http://biocontrol.ucr.edu/rodolia/rodolia_icerya_biocontrol_galapagos.html).

ROYAL BOTANIC GARDENS. (2011). (M. Fay, Ed.). *Invasive Rubus*. Recuperado el 10 de 01 de 2012, de kew.org: [http://www.kew.org/kewscientist/KewScientist\\_40.pdf](http://www.kew.org/kewscientist/KewScientist_40.pdf).

SINGH, S. P. (2004). *Some succes stories in classical biological control of agricultural pests India*. Recuperado el 20 de 01 de 2012, de apaari.org: [http://www.apaari.org/wp-content/uploads/2009/05/ss\\_2004\\_02.pdf](http://www.apaari.org/wp-content/uploads/2009/05/ss_2004_02.pdf).

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA); Agricultural; Research service (ARS); National Genetic Resources Program (NGRP). (s.f.). *Germplasm Resources Information Network - (GRIN)*. *Taxonomy for Rubus niveus* Thunb. Recuperado el 16 de septiembre de 2011, de ars-grin.gov: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?32396>.

FUNDACIÓN CHARLES DARWIN. (14 de septiembre de 2011a). (P. Jaramillo, & A. Guézou, Edits.). *Lista de especies de plantas vasculares de Galápagos*. Obtenido de darwinfoundation: <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/vascular-plants/>.

FUNDACIÓN CHARLES DARWIN. (16 de septiembre de 2011b). (M. Gardener, C. Causton, R. Atkinson, & A. Guézou, Editores). *Especies introducidas en Galápagos*. Obtenido de darwinfoundation: <http://www.darwinfoundation.org/datazone/checklists/introduced-species/>.

## ANEXOS



**Anexo 1.** Posible presencia de hongo causante de la muerte de plantas de *R. niveus* en Bellavista. Se observa que la pudrición del tejido empieza desde el ápice de la planta.



**Anexo 2.** Especie de larva de Lepidóptero perteneciente a la familia Noctuidae, posiblemente del género Tortricidae o Pyralidae sobre una planta de *R. niveus* en Bellavista.



**Anexo 3.** Especie de larva de Lepidóptero posiblemente de la familia Tortricidae o Pyralidae sobre una hojuela de *R. niveus* y detalle de la larva en Bellavista.



**Anexo 4.** Larva de Lepidóptero perteneciente a la familia Noctuidae sobre *R. niveus* y detalle de una hoja que fue afectada por esta larva en el sector de “El Occidente”.



**Anexo 5.** Especie de larva de Lepidóptero posiblemente perteneciente a la familia Noctuidae, sobre hojuela de *R. niveus* en el sector de “El Occidente”.



**Anexo 6.** Especie de insecto perteneciente a la familia Geometridae sobre de *R. niveus* en el sector de “El Occidente”.



**Anexo 7.** Especie de Coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae sobre *R. niveus* en el sector de “El Occidente”.



**Anexo 8.** Especie de Coleóptero perteneciente a la familia Curculionidae sobre *R. niveus* en el sector de “El Occidente”.