



**Facultad de Ciencias Naturales y Museo  
Universidad Nacional de La Plata**

*Trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Naturales*

**Estudios bionómicos y de dinámica poblacional para el manejo  
de *Thaumastocoris peregrinus*, especie invasora plaga de  
*Eucalyptus* spp. en Argentina**

**Ingeniera agrónoma Marina Santadino**

**Director  
Dr. Carlos Eduardo Coviella**

**Co Director  
Dr. Gerardo Liljeström**

**2019**

# Índice

## Agradecimientos

<b>Resumen</b>	<b>1</b>
<b>Abstract</b>	<b>5</b>
<b>Capítulo 1. Introducción general</b>	<b>9</b>
1.1. <i>Eucalyptus</i> en el mundo y en Argentina	10
1.2. Plagas de <i>Eucalyptus</i>	11
a) Comedores de hojas	12
b) Consumidores de ramas y fustes	13
c) Insectos succionadores	14
d) Insectos galícolas	15
1.3. <i>Thaumastocoris peregrinus</i>	15
a) Descripción de la especie	16
1.4. Invasiones biológicas	21
a) Mecanismos de invasión	22
1.5. Objetivos generales	26
<b>Capítulo 2. Comportamiento alimentario de <i>Thaumastocoris peregrinus</i>: selección, aceptación y utilización del recurso</b>	<b>27</b>
Introducción	28
2.1. Selección y aceptación	29
Objetivos	30
Materiales y Métodos	30

a) Respuesta olfativa sin acceso al material vegetal ofrecido	31
b) Respuesta alimentaria con acceso al material ofrecido (ensayo de libre elección)	33
c) Análisis Estadístico	34
Resultados	34
a) Respuesta olfativa sin acceso al material ofrecido	34
b) Respuesta alimentaria con acceso al material vegetal ofrecido	35
Discusión	36
2.2. Utilización del recurso	38
Materiales y métodos	40
a) Plantas e insectos	40
b) Sitio de alimentación	40
c) Detección de clorofila	41
i- Espectrofotometría	41
ii- Escaneo láser confocal y microscopía de fluorescencia	41
Resultados	42
a) Sitio de alimentación	42
b) Detección de clorofila	45
i- Espectrofotometría	45
ii- Escaneo láser confocal y microscopía de fluorescencia	46
Discusión	49
<b>Capítulo 3. Preferencia alimentaria de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> sobre varias especies de <i>Eucalyptus</i></b>	<b>54</b>
Introducción	55

Objetivo	60
Materiales y Métodos	60
a) Preferencia hoja joven versus hoja adulta	60
b) Preferencia de alimentación de <i>T. peregrinus</i> sobre diferentes especies de <i>Eucalyptus</i> en el laboratorio	61
c) Composición química de los aceites esenciales	62
d) Análisis estadísticos	63
Resultados	65
a) Preferencia hoja joven versus hoja adulta	65
b) Preferencia de alimentación sobre diferentes especies de <i>Eucalyptus</i> en el laboratorio	67
c) Composición química de los aceites esenciales	69
d) Relación entre preferencias alimentarias y aceites esenciales	73
Discusión	74
<b>Capítulo 4. Preferencia de oviposición y desempeño de <i>Thaumastocoris peregrinus</i> sobre distintas especies de <i>Eucalyptus</i></b>	<b>79</b>
Introducción	80
Hipótesis	83
Objetivos	83
Materiales y Métodos	84
a) Preferencia de oviposición	84
b) Desempeño	85
c) Análisis estadístico	86
Resultados	87

a) Preferencia de oviposición	87
b) Desempeño	89
Discusión	95
<b>Capítulo 5. Estrategias para el manejo de <i>Thaumastocoris peregrinus</i></b>	<b>100</b>
Manejo integrado de plagas	101
5.1. Estrategias de manejo	102
5.2. Control biológico	104
Objetivo	105
Materiales y Métodos	105
Resultados y Discusión	105
Conclusión	109
5.3. Control químico	109
Objetivos	110
Materiales y Métodos	111
a) Eficacia	112
b) Residualidad	113
c) Análisis de datos	114
Resultados	114
a) Eficacia	114
b) Residualidad	115
Discusión	119
<b>Capítulo 6. Consideraciones finales</b>	<b>122</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>131</b>

# Agradecimientos

En primer lugar al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva y a la Universidad Nacional de Luján por la financiación recibida a través del Programa de Formación de Recursos Humanos (PRH Nº19) para la realización de esta tesis y a la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata, por permitirme seguir mi formación en la Universidad Pública

A mis directores, Carlos Coviella y Gerardo Liljesthrom.

A Carlos por enseñarme a interpretar, analizar y pensar la ecología, por la paciencia y la dedicación y por acompañarme en todo este proceso.

A Gerardo, por guiarme en todo este trayecto. A ambos por las sugerencias para mejorar mi escritura.

A la gente de cada uno de los sitios donde realice muestreos en especial a Juan Pedro Bouvet, del Inta Concordia y a Federico Stervelynck del establecimiento "Liebre" en Jauregui.

A mi familia zoológica, María del Pilar Sobero y Rojo, Agustina Ansa, Antonela Dettler, Gualterio Barrientos y Gisela Di Silvestro no solo por la ayuda en el trabajo, sino también por acompañarme en todo momento. Y especialmente a María Riquelme que siempre ha estado a mi lado, en las buenas y sobre todo en las malas. No voy a olvidar nunca todo lo que me has ayudado.

A la gente del laboratorio de ecología, por las risas y el conocimiento, Liliana Falco, Rosana Sandler, Laura Rigacci, Gabriela Campana, Constanza Ranieri, Luciana Rocha, María Andrea Casset, Patricia Gantes, Leonardo Malacalza, Ricardo Castro Huerta, Mónica Díaz Porres, Nadia Codugnello, Anibal Sanchez Caro.

A Fernando Momo y Andrés Duhour, por su magia estadística.

Agradezco a las personas que me ayudaron y acompañaron en los experimentos, Ivan Invernoz, Estevan Aimar, Ivan Natello, Loretta Gimenez y Martin Bruno que sin su ayuda no hubiera sido posible esta tesis.

A la gente del Museo de Ciencias Naturales, especialmente a la Dra. Eugenia Brentassi y al Dr. Diego Fanello.

Al Dr. Alejandro Lucia, por sus invaluable aportes.

A mis amigas Gabriela, Monica, Ana, Graciela y Alejandra por darme el impulso necesario para la finalización de la tesis y por soportarme con cariño durante las vueltas en el desarrollo de esta tesis.

A los seres que me dieron la vida y hermanos para compartirla, a ellos, por estar siempre ahí. A toda mi familia, que me apoyó durante este trabajo y tuvo paciencia ante mis ausencias. Pero sobre todo a mis hijos, que estuvieron en todo momento y son lo que más quiero en la vida.



Parte de los resultados presentados en este trabajo de Tesis han sido publicados bajo los siguientes títulos.

- **Santadino, M.**, Lucia, A., Duhour, A., Riquelme, M., Naspi, C., Masuh, H., Liljeström, G. & Coviella, C. 2017. Feeding preference of *Thaumastocoris peregrinus* on several *Eucalyptus* species and the relationship with the profile of terpenes in their essential oils. *Phytoparasitica*, 45(3), 395-406.
- **Santadino, M.**, Brentassi, M. E., Fanello, D. D., y Coviella, C. 2017. First Evidence of *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) Feeding From Mesophyll of *Eucalyptus* Leaves. *Environmental entomology*, 46(2), 251-257.
- **Santadino, M.**; Riquelme Virgala, M y Coviella, C. 2013. First record of native predators on the invasive species *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) in *Eucalyptus* in Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 72.3-4. Nota científica.

Se han presentado los siguientes trabajos en congresos y /o jornadas:

- Incidencia de las principales plagas animales asociadas a clones de *Eucalyptus* en el norte de Buenos Aires. Riquelme Virgala, M. B.; Monzón, J.; Bruno, M.; Ansa, A.; **Santadino, M.**; Giménez, L.; Gutiérrez, Matías; Tuneso, Alfredo; Coviella, C. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Santa Fe, Octubre 2015.
- Evaluación de insecticidas sistémicos para el control de *Thaumastocoris peregrinus* en plantas jóvenes de *Eucalyptus camaldulensis*. Natello, I.; Sobero y

Rojo, M.P.; **Santadino**, M.; Riquelme Virgala, M.B.; Ansa, A.; Barrientos, G. y Gutiérrez, M. XV Jornadas Fitosanitarias Argentinas. Santa Fe, Octubre 2015.

- Preferencia alimentaria de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) sobre distintas especies de *Eucalyptus* y su relación con la composición química de los aceites esenciales. **Santadino, Marina**; Lucia, Alejandro; Duhour, Andres; Riquelme Virgala, María; Naspi, Cecilia; Masuh,Hector; Coviella, Carlos. IX Congreso Argentino de Entomología. Posadas, Misiones. Mayo 2015.
- Preferencia alimentaria de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), entre hojas jóvenes y adultas de *Eucalyptus* spp. Dettler, A; **Santadino**; M; Riquelme; M; Ansa; A. IX Congreso Argentino de Entomología. Posadas. Mayo 2015.
- Evaluación de la eficacia de control de insecticidas sobre *Thaumastocoris peregrinus* en hojas de eucaliptos en condiciones de laboratorio. Sobero y Rojo, M., **Santadino, M.**, Di Silvestro, G., Ansa, A., Detler, A., Riquelme Virgala, M. y Coviella, C. IV Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano. Iguazú, Septiembre de 2013.
- Feeding and oviposition preferences of *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) Carpintero and Dellapé. **Santadino**, M.; Liljesthrom, G.; Coviella, C. 61 Annual Meeting of the Entomological Society of America. 10 al 13 de Noviembre de 2013. Austin, Texas, USA
- Feeding and ovipositional preferences in *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera. Thaumastocoridae). **Santadino, M**; Riquelme Virgala, M; Coviella, C. The 59th Annual Meeting of the Entomological Society of America. Reno, Nevada. EE.UU. 13-16 de Noviembre de 2011.

- Utilización de la especie exótica *Thaumastocoris peregrinus*, chinche del eucalipto, como recurso por predadores locales. **Santadino,M.** Liljesthröm, G. Coviella C IV Reunión Binacional de Ecología. Fac. de Ciencias Exactas y Naturales. UBA. Agosto 2010.
- Estudios de preferencia alimentaria de *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero y Dellape). (Heteróptera, Thaumastocoridae), especie invasora plaga sobre distintas especies de *Eucalyptus* spp. **Santadino,M.** Liljesthröm, G. Coviella C. VII Congreso Argentino de entomología. Huerta Grande Corboba. Argentina. Octubre 2008.

## Resumen

La introducción de especies en ambientes nuevos y el establecimiento de las mismas como especies invasoras es un problema creciente, tanto en el número de especies establecidas fuera de su área natural, como en el creciente número de áreas afectadas. La teoría ecológica predice que una vez establecida, una especie invasora puede desarrollar explosiones poblacionales, dada la ausencia de los controles naturales presentes en su zona de origen.

*Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellape (Heteroptera: Thaumastocoridae) es una especie invasora en Argentina de ocasional importancia económica en su zona de origen en Australia donde explosiones poblacionales de esta especie han causado serios daños, llegando a la muerte de árboles adultos. Identificada originalmente como *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy, su presencia fue registrada por primera vez fuera de Australia, en Sudáfrica, con un ejemplar colectado en 2003 donde se convirtió rápidamente en un problema fitosanitario en cultivos de varias especies de *Eucalyptus*. En 2005 fue detectada en Moreno, Lujan y La Plata en la Provincia de Buenos Aires. Para 2006 se la encontró en Concordia, Entre Ríos y rápidamente fue detectada en Uruguay en el 2007, en el sur de Brasil en Octubre de 2008, en Chile en 2009 y en Paraguay en 2010. Actualmente su distribución mundial abarca los países de Nueva Zelanda, Italia, Portugal, Israel, México, Estados Unidos de América y por último en Albania.

La detección a principios de 2005 en Moreno, Provincia de Buenos Aires, fue el primer registro de la especie en América. Estudios sobre individuos colectados en La Plata, Provincia de Buenos Aires, llevaron a identificarlo como una nueva especie, *T. peregrinus*. Posteriormente, esta identidad fue confirmada, siendo ésta la especie

considerada como responsable de los severos daños descritos sobre *Eucalyptus* spp. en Sydney, Australia y la que está presente en todos los países citados.

Tanto en Australia, su zona de origen, como en otras partes del mundo, este insecto ha causado severos daños a especies de eucaliptos de interés comercial y ornamental, tales como *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. bicostata* y *E. maidenii*, y en Argentina, su presencia ha sido confirmada además, sobre *E. viminalis*, *E. tereticornis* y *E. dunnii*. Todas las especies nombradas son de muy alto interés comercial en Argentina. Dada la rápida dispersión ocurrida en el resto del mundo desde su primera detección fuera de Australia, *T. peregrinus* se convirtió rápidamente en una plaga de alto impacto en varias de las especies forestales de más alto valor comercial.

La superficie implantada con *Eucalyptus* es de aproximadamente 255.000 ha, lo cual representa un 22,8% de la superficie total destinada para producción forestal, por lo que constituye un recurso forestal de importancia para la Argentina. El crecimiento del área forestada con especies de *Eucalyptus* spp. ha alcanzado en los últimos años un nivel significativo. Las plantaciones están localizadas mayormente en las provincias de Corrientes, Entre Ríos y Buenos Aires, aunque también hay importantes áreas forestadas en el Noroeste Argentino (NOA): Jujuy, Salta, Tucumán, Santiago del Estero y Catamarca. Las principales especies que se cultivan en la Argentina son: *Eucalyptus grandis*, *E. dunnii*, *E. tereticornis*, *E. globulus* y *E. camaldulensis*.

En este contexto, y dada la generalizada falta de información acerca de esta nueva especie plaga, esta tesis explora algunos aspectos relevantes de la biología básica de esta especie: Comportamiento de alimentación, preferencias de alimentación y de oviposición, y su relación con el desempeño. Para esto, realicé estudios de comportamiento y respuesta olfativa con y sin acceso al material vegetal por medio de un olfatómetro. De particular interés me resultó la falta de claridad en la bibliografía disponible acerca del sitio específico de alimentación de este insecto sobre las hojas de Eucaliptos. Conocer el sitio y la manera de alimentación de este insecto, no sólo permite

entender el comportamiento y el daño sobre la planta, sino que también resulta de interés al momento de decidir estrategias de control. Por esta razón, abordé el estudio detallado de este aspecto. Contrariamente a mucha bibliografía sobre el tema, los resultados muestran con claridad que esta especie se alimenta de las células del mesófilo. Los resultados de estos estudios de comportamiento de alimentación son presentados en el capítulo 2.

Respecto a la ecología de esta especie, analicé no sólo su comportamiento de alimentación ya mencionado, sino también las preferencias de alimentación, así como las preferencias de oviposición y el desempeño sobre distintas especies hospedadoras. También me interesó dilucidar los mecanismos que estarían operando en la relación planta-insecto, que pudieran dar cuenta de las preferencias observadas.

De esta manera, el capítulo 3 aborda estudios de preferencia de alimentación sobre distintas especies de Eucalipto, así como la relación entre esta preferencia y la presencia de distintos aceites esenciales. Se detectó una preferencia muy marcada y jerárquicamente lineal entre las distintas especies de Eucalipto ensayadas, así como un rechazo casi total de las hojas de plantas jóvenes. Asimismo los resultados mostraron correlaciones entre la jerarquía de preferencias encontrada y la presencia o ausencia de dos aceites esenciales.

El capítulo 4 presenta los estudios sobre la preferencia de oviposición y desempeño sobre las mismas especies. Los resultados de estos estudios resultan notables, dado que se detectó una preferencia muy marcada y jerárquicamente lineal respecto de la preferencia de alimentación (capítulo 3), una fuerte correlación entre preferencia de alimentación y el desempeño de los insectos, pero ninguna preferencia de oviposición sobre las mismas especies.

Existen evidencias de que la preferencia de oviposición por parte de las hembras de insectos herbívoros está positivamente correlacionada con el desempeño de los

individuos de la siguiente generación. En efecto, el éxito reproductivo depende de la supervivencia de la descendencia y está fuertemente moldeada por la selección natural, pero, al mismo tiempo, afectada por la forma en que los individuos perciben su ambiente a varios niveles jerárquicos. Sin embargo, desviaciones de este supuesto abundan, tal como es el caso de los resultados de esta tesis. Existen varias razones que pueden explicar esta falta de correlación, como por ejemplo que la planta preferida sea rara en el nuevo hábitat, o ser una reciente introducción al hábitat o una planta hospedera recientemente colonizada por la especie. Otra explicación para la posible falta de correlación, puede ser explicada por la hipótesis del espacio libre de enemigos naturales. En el capítulo 4 discuto estos resultados a la luz de diversas aproximaciones teóricas, que podrían explicar estas discrepancias entre la preferencia de alimentación y el desempeño y la falta de preferencia de oviposición.

Finalmente, el capítulo 5 aborda distintas estrategias para el manejo integrado de *T. peregrinus*. Se discuten allí aspectos ligados al manejo mediante selección de especies resistentes, el posible control biológico y alternativas para el control químico de esta especie plaga, mediante el ensayo de distintos insecticidas, así como el cálculo de sus eficacias y residualidad.

## Abstract

The introduction of species into new ranges and their establishment as invasive species is a growing worldwide problem, not only because of the number of species outside their natural ranges, but also in the number of affected regions. Ecological theory predicts that, once established, an invasive species is prone to population outbreaks due to the absence of the natural controls present in their original habitats.

*Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellape (Heteroptera: Thaumastocoridae), is an invasive species in Argentina, of only occasional importance in its original range in Australia. Population outbreaks there have caused damages in the past, and even die offs of adult trees.

Identified at first as *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy, its presence was registered outside Australia for the first time in the Gauteng Province, South Africa, with several specimens collected in December 2003, mainly on *Eucalyptus camaldulensis* Denh. It rapidly became a serious sanitary problem on several *Eucalyptus* species. In 2005 it was detected in Argentina in Moreno, Lujan, and La Plata, Buenos Aires Province. By 2006 it had spread to Concordia, Entre Rios, moving rapidly to Uruguay (2007), Southern Brazil (October 2008), Chile (2009), and Paraguay (2010)

Its current worldwide distribution encompasses also New Zealand, Italy, Portugal, Israel, México, United States and, at the moment of the writing of this thesis it was detected in Albany.

The initial detection in 2005 in Moreno, Argentina, was the first record of this species in the Americas. Studies on specimens collected in La Plata led to its



identification as a new species, namely *Thaumastocoris peregrinus*. Later this identification was confirmed, being this species now considered the one responsible for the severe damages described on *Eucalyptus* spp. in Sydney, Australia and the one present in all the countries mentioned above.

In its native range, as well as in other parts of the world, this insect has caused severe damage to *Eucalypt* species of great commercial interest, such as *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. bicostata* and *E. maidenii*. In Argentina, its presence has also been confirmed on *E. viminalis*, *E. tereticornis*, and *E. dunnii*. All these species are of great commercial value in Argentina. Due to the fast spreading of this invasive species all around the world following its first detection outside Australia, *T. peregrinus* rapidly became a worldwide high profile pest.

The area implanted with *Eucalyptus* spp. in Argentina is approximately 255.000 ha, which represents 22.8% of the total area dedicated to forestry, making these species an economic resource of great importance for the country. The increase in the area planted with *Eucalyptus* spp. in late years was significant. *Eucalyptus* plantations are located mainly in the Corrientes, Entre Ríos, and Buenos Aires Provinces, although there are also other significant areas in Northwestern Argentina (NOA): Jujuy, Salta, Tucumán, Santiago del Estero and Catamarca Provinces. The main species planted in Argentina are: *Eucalyptus grandis*, *E. dunnii*, *E. tereticornis*, *E. globules*, and *E. camaldulensis*.

It is in this context that, due to the generalized lack of information about this new insect pest, this thesis explores some relevant issues about the biology, and ecology of this species. This thesis presents my studies on the feeding behavior, feeding choice and preference, oviposition preference, and their relationship with this insect's performance. In order to carry on with those, I carried behavioral and olfaction experiments with and without access to the food material using an olfactometer. Of particular interest to me was the specific feeding site of this insect on the *Eucalypt* leaves. To know the site and way in which the insects feed, allows not only for a better

understanding of the damage on the host plant, but also when deciding control strategies for the pest. For this reason, I studied this particular aspect in great detail. Contrary to much of the bibliography on this issue, the results clearly show that this species feeds on the mesophyll cells. The results of the studies on feeding behavior are presented in Chapter 2.

Regarding the ecology of this species, I analyzed not only the feeding behavior as stated above, but also feeding preference, as well as oviposition preference and performance over different host species. I was also interested in clarifying the mechanisms that would be in place in the insect-plant interactions that could explain the observed behavior and preferences.

In this way, Chapter 3 shows the feeding preference studies on different *Eucalyptus* species and the relationships between these preferences and the essential oil profiles on the same host species. A very strong, linear preference was detected between the different *Eucalypts* species tested, and an almost complete rejection of young trees' leaves. Furthermore, the results clearly showed correlations between the preferences hierarchies found and the levels of two essential oils.

Chapter 4 is about the studies on oviposition and performance on the same host species. The results of those studies are noteworthy, since a very strong and linear feeding preference was detected, as shown in Chapter 3, a strong correlation was also found between feeding preference and insect performance, but no oviposition preference at all was detected on the same *Eucalypt* species tested.

There is evidence in the literature about oviposition preference by female insects being positively correlated with offspring performance. Indeed, reproductive success depends on offspring survival and is strongly affected by natural selection, but also influenced by the way in which individuals perceive their environment at different hierarchical levels. However, deviations do exist on this assumption, which is the case of

the results presented in this thesis. Several reasons exist, that can account for the lack of correlation found here. For instance, the preferred plant might be rare or absent in the new range, or being a recent introduction to the habitat, or a host plant recently colonized by the insect species. Another possible explanation for this lack of correlation is the enemy-free space hypothesis. In Chapter 4 I discuss the results in light of these different theoretical approaches that could account for the observed discrepancies between feeding preference and performance with the lack of oviposition preference.

Finally, Chapter 5 deals with different management strategies for the development of an Integrated Pest Management program for *T. peregrinus*. Different issues are tackled in this part, related to management by selection of resistant host species, the possibility of biological control, and chemical control alternatives through the assay of different insecticides and their efficacy and residual effects.

# **Capítulo I**

## **Introducción General**

## 1.1- *Eucalyptus* en el mundo y en Argentina

El género *Eucalyptus* L'Héritier, perteneciente a la familia de las Myrtaceas, constituye uno de los principales componentes de la actividad forestal mundial, con más de 20 millones de hectáreas plantadas en el mundo. Es un género muy diverso que abarca más de 700 especies, ocupando una variedad de nichos ecológicos, con cerca de 15 subgéneros, incluyendo *Corymbia* (70 spp. aprox.), *Eucalyptus* (110 spp.) y *Symphyomyrtus* (500 spp.) (Merchant *et al.*, 2006).

Las especies del género *Eucalyptus* son nativas de Australia y Nueva Guinea (Doughty, 2000). Estos se han ganado una reputación única entre las especies maderables debido a varias características deseables. Muchas especies crecen rápidamente y producen madera de muy alta calidad que también puede utilizarse como celulosa para la fabricación de papel. Pueden plantarse a altas densidades y suelen cosecharse en rotaciones de aproximadamente 10 años, dependiendo de la ubicación. Estos árboles crecen en suelos pobres, sin riego suplementario, lo que les proporciona una ventaja sobre las plantaciones de otras especies de madera dura. En consecuencia, en América del Sur (Brasil, Chile y Argentina), África subsahariana (República de Sudáfrica, Zambia y Malawi), y la cuenca mediterránea (España, Portugal, Italia, Túnez, Argelia e Israel) se encuentran enormes plantaciones de eucalipto (Doughty 2000). Además de su valor como especies comerciales, los eucaliptos también se han plantado en muchas zonas templadas y subtropicales del mundo como árboles ornamentales.

En Argentina el 65% de las forestaciones del país corresponde a especies de coníferas, fundamentalmente *Pinus elliottii* y *P. taeda* y en menor medida otras especies como *Araucaria angustifolia*, *P. ponderosa* y *Pseudotsuga menziesii*. La superficie implantada con *Eucalyptus* es de aproximadamente 255.000 ha, lo cual representa un 22,8% de la superficie total destinada para producción forestal (UCAR, 2015). Las

especies que se cultivan son principalmente *E. grandis* Hill ex Maiden, *E. saligna* Smith, seguidos de *E. camaldulensis* Dehn, *E. globulus* Labill, *E. tereticornis* Smith, *E. viminalis* Labill y sus híbridos, con destino a la industria de papel y de madera sólida (Beale y Ortiz, 2013).

Las plantaciones de *Eucalyptus* están localizadas mayormente en las provincias de Misiones, Corrientes, Entre Ríos y Buenos Aires, aunque también hay importantes áreas forestadas en el noroeste argentino (NOA): Jujuy, Salta, Tucumán, Santiago del Estero y Catamarca (Diodato y Venturini, 2007).

Los eucaliptos han tenido una amplia difusión no sólo en su área nativa, sino como especies exóticas en la mayoría de las zonas de clima tropical, subtropical o templado cálido. Esto sumado a los avances, en cuanto al transporte internacional, han eliminado las barreras naturales de dispersión de plantas y animales, aumentando notoriamente el riesgo de introducción de plagas en cualquier región. Al igual que en el resto del mundo, la expansión del área forestada en Argentina es acompañada por la colonización de herbívoros exóticos específicos del género *Eucalyptus* (Paine *et al.*, 2011).

## **1.2- Plagas de *Eucalyptus***

De las principales plagas que afectan la producción de *Eucalyptus* en la Argentina se encuentran a las hormigas cortadoras de los géneros *Acromyrmex* Mayr y *Atta* Fabricius (Hymenoptera: Formicidae). Entre los insectos defoliadores se encuentran los gorgojos del género *Gonipterus* Schoengerr, *Gonipterus platensis* Marelli y *G. pulverulentus* Lea (Coleoptera: Curculionidae) y la polilla *Thyrintina arnobia* Stoll (Lepidoptera: Geometridae). Los insectos xilófagos *Phoracantha semipunctata* Fabricius y *P. recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae). Los fitosuccívoros *Blastopsylla occidentalis* Taylor, *Glycaspis brimblecombei* Moore y *Ctenarytaina eucalypti* Maskell (Hemiptera: Psyllidae), y *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé (Hemiptera:

Thaumastocoridae). Por último, los gallícolas como *Leptocybe invasa* Fisher & La Salle y *Ophelimus maskelii* Ashmead (Hymenoptera: Eulophidae) (Bouvet *et al.*, 2005; Botto *et al.*, 2010; Aquino *et al.*, 2018).

#### **a- Comedores de hojas**

Las hormigas caracterizadas como cortadoras de hojas se encuentran en dos de los 12 géneros existentes en la tribu *Attini*. Los géneros *Atta*, con 15 especies, y *Acromyrmex*, con 24, son considerados como los principales herbívoros de los trópicos y subtrópicos de América, con categoría de plagas para la agricultura y silvicultura (Weber, 1982; Cherret, 1986; Hölldobler y Wilson, 1990). La distribución geográfica de las hormigas cortadoras se encuentra limitada al continente americano y algunas islas del Caribe, entre los paralelos 40° N y 44° S. La riqueza de especies en *Atta* y *Acromyrmex* es mayor en los subtrópicos de Sudamérica, particularmente en el norte de Argentina, Paraguay, el sur de Brasil, Bolivia y Uruguay (Fowler, 1983; Cherret, 1989; Hölldobler y Wilson, 1990). Las hormigas cortadoras del género *Atta* son insectos que causan defoliación en *Eucalyptus* como en varios tipos de plantas, utilizando las hojas que cosechan para cultivar el hongo a partir del cual se alimentan (Zanuncio *et al.*, 2002). El género *Acromyrmex* puede provocar muerte de plantas o un crecimiento más lento y en consecuencia afectar la producción de madera (Zanetti *et al.*, 2000; Della Lucia, 2003). Estudios demostraron que el ataque de *A. lundii* a *E. globulus* de diferentes procedencias redujeron significativamente altura, diámetro y área foliar de los mismos (Martínez *et al.*, 2015).

Entre las primeras especies fitófagas que expandieron su distribución por fuera de su lugar de origen se encuentran los gorgojos del género *Gonipterus* Schoengerr. Las especies presentes en Argentina son *Gonipterus platensis* Marelli y *G. pulverulentus* Lea, las cuales fueron registradas por primera vez en el año 1925 (Marelli, 1927) y rápidamente se dispersaron por el territorio asociadas a la presencia de eucaliptos. El daño que producen se debe a la alimentación de las larvas y de los adultos que

consumen específicamente las hojas de los árboles de este género (Fig 1.1), pudiendo defoliar completamente los brotes nuevos en caso de ataques severos (EPPO, 2005). Tanto en su lugar de origen, como en los lugares donde se ha dispersado, incluida la Argentina, se encuentra su parasitoide oófago específico, *Anaphes nitens* Girault (Hymenoptera, Mymaridae), limitando sus poblaciones. Sin embargo, bajo determinadas condiciones se ha constatado un crecimiento poblacional asociado a mayores daños en diferentes especies de eucaliptos (Mapondera *et al.*, 2012, Medeiros de Souza *et al.*, 2016).



**Figura 1.1:** *Gonipterus* sp. a. Detalle de adulto alimentándose desde el borde de la hoja. B. Las larvas de los primeros estadios se alimentan realizando galerías.

*Thyrinteina arnobia* es un insecto defoliador cuya larva se alimenta de la base a la cima y de los márgenes al interior de los árboles de *Eucalyptus* (Zanuncio *et al.*, 1993).

#### **b- Consumidores de ramas y fuste**

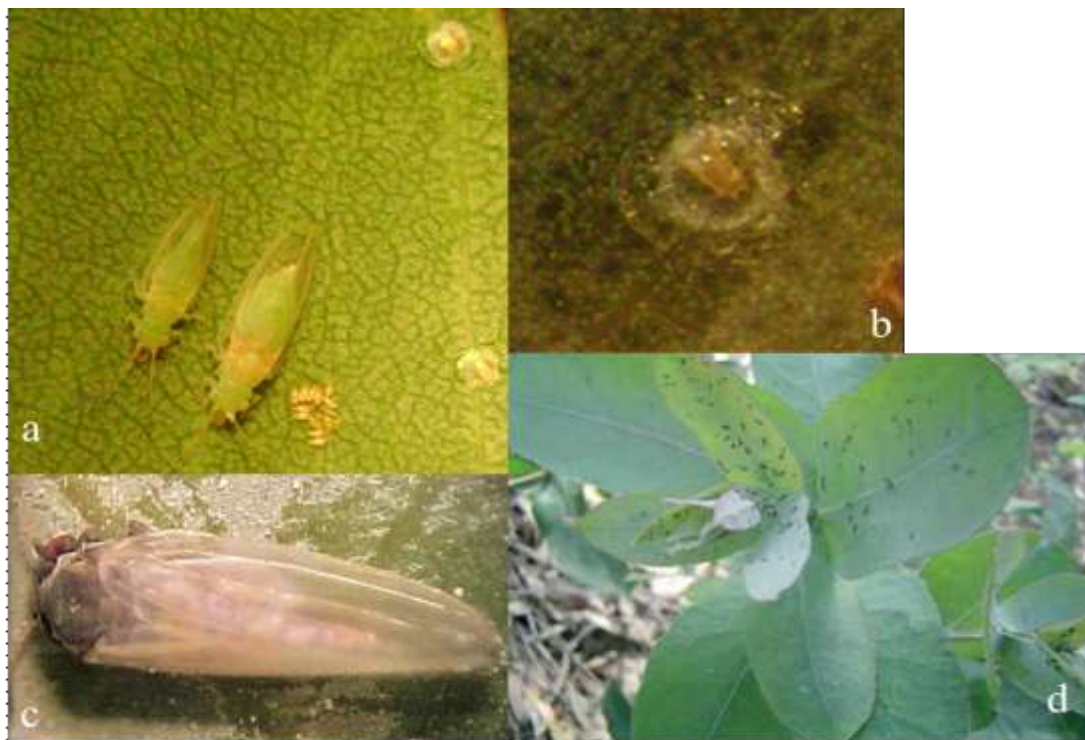
*Phoracantha semipunctata* es un insecto xilófago cuyas larvas pueden producir muerte de árboles ya que se alimentan del cambium de árboles de *Eucalyptus* en condiciones de estrés, especialmente en condiciones de sequía (Cillió y Tribe, 1991), pudiendo también disminuir la producción de los mismos por afectar las trozas de árboles recién apeados (Mansilla Vázquez *et al.*, 1999). *Phoracantha recurva* comparte



los mismos hábitos alimenticios y comportamiento que *P. semipunctata* (Wilcken *et al.*, 2002).

### c- Insectos succionadores

*Glycaspis brimblecombei* es una especie cuyos adultos y ninfas se alimentan de las hojas de *Eucalyptus* siendo las ninfas las que mayor daño causan (Fig. 1.2 a y b), como consecuencia de su alimentación generan decoloración de las hojas y pérdida de follaje (Diodato y Venturi, 2007). *Ctenarytaina eucalypti* succiona los jugos que contiene el parénquima foliar, provoca desecación de hojas y brotes los cuales se retuercen y deforman adquiriendo un color grisáceo negruzco (Fig. 1.2 c y d), en ataques reiterados deja brotes deformes e incluso secos (Cadahia, 1980).



**Figura 1.2.** Insectos fitosuccívoros. a. Adultos de *Glycaspis brimblecombei*. b. Detalle de ninfa protegida con un escudo y hojas de eucalipto con varios escudos. c. Adulto de *Ctenarytaina eucalypti*. d. Brotes jóvenes de eucalipto con presencia de ninfas de *C. eucalypti*.

## **d - Insectos galícolas**

La familia Eulophidae agrupa el mayor número de avispas asociadas al género *Eucalyptus* con hábitos endofitófagos, ya sea como productores de agallas, parasitoides o inquilinos (La Salle, 2005). En Argentina, *Leptocybe invasa* fue registrada por primera vez en el año 2010 (Botto *et al.*, 2010). Las hembras oviponen en los pecíolos, nervaduras centrales de las hojas y tallos de ramas jóvenes, siendo las especies *Eucalyptus grandis*, *E. tereticornis* y *E. camaldulensis* las más susceptibles a su ataque (Nyeko *et al.*, 2009; Thu *et al.*, 2009). Cuando las infestaciones son muy elevadas, *L. invasa* puede producir la caída prematura de hojas e incluso la muerte de plantines, plantas jóvenes o árboles debilitados (Mendel *et al.*, 2004). Por su parte, *Ophelimus maskelli* fue registrada en Argentina en el año 2013. Las hembras oviponen y generan agallas uniloculares en la lámina de las hojas, mostrando preferencia por *E. tereticornis* y *E. camaldulensis* (Protasov *et al.*, 2007). Se ha registrado en *E. camaldulensis* que elevadas infestaciones pueden ocasionar la desecación de parte de la copa de estos árboles (Protasov *et al.*, 2007).

### **1.3 *Thaumastocoris peregrinus***

*Thaumastocoris peregrinus*, chinche del bronceado del eucalipto, es una especie originaria de Australia, donde sus explosiones poblacionales han ocasionado serios daños, llegando a causar la muerte de árboles adultos (Noack y Coviella, 2006). En los últimos 15 años se ha convertido en una de las plagas invasoras más importantes de las plantaciones de eucalipto alrededor del mundo. Su presencia fue registrada por primera vez fuera de Australia en Sudáfrica con un ejemplar colectado en 2003 donde se convirtió rápidamente en un problema sanitario en cultivos de *Eucalyptus*. En 2005 fue detectada en Moreno, Luján y La Plata en la Provincia de Buenos Aires, y rápidamente se distribuyó por otras regiones del país (Noack y Coviella, 2006). La especie es reportada

en Sudáfrica en 2003 como *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Jacob y Nesor, 2005) y en Argentina (Noack y Coviella, 2006), pero luego Carpintero y Dellapé (2006) la identifican en Argentina como una especie nueva, *Thaumastocoris peregrinus* y se determina que es la misma que se reportó en Australia y Sudáfrica. En el año 2008 se informa su presencia en Uruguay (Martinez, 2008), mismo año en el que se la detecta en Brasil (Wilcken, 2008). Se la registró en Chile en el año 2009 (Ide *et al.*, 2011) y en Paraguay en el año 2010 (Zaracho *et al.*, 2014). Más recientemente fue reportada en Nueva Zelanda (Sopow *et al.*, 2012), Italia (Laudonia y Sasso, 2012), Portugal (García *et al.*, 2013), Israel (Novoselsky y Freiberg, 2016) y Mexico (Jiménez Quiroz *et al.*, 2016). En los Estados Unidos de América (California) y por último en Albania (van der Heyden, 2017).

#### **a- Descripción de la especie**

*Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae), es un insecto pequeño (2-4.5 mm) que pertenece a los Thaumastocoridae, una familia de chinches cimicomorfas descrita por primera vez por Kirkaldy (1908). Thaumastocoridae incluye tres subfamilias, los Thaicatorinae de Tailandia con un género existente, los Xylastodorinae sudamericanos representados por dos géneros y seis especies y los Thaumastocorinae con cuatro géneros y 13 especies (Slater, 1973; Cassis *et al.*, 1999; Heiss y Popov, 2002). Esta última subfamilia con insectos fitosuccivoros de Australia, con un solo género y especie en el sur de la India (Drake y Slater, 1957). Los Thaumastocorinae tienen un amplio rango de hospedantes que incluye especies de *Acacia*, *Agonis*, *Banksia*, *Dryandra*, *Elaeocarpus*, *Eucalyptus*, *Melaleuca*, *Schizomeria* y *Xanthorrhoea*, mientras que los Xylastodorinae se alimentan exclusivamente de *Palmae* (Kumar, 1964; Slater, 1973; Hill, 1988; Cassis *et al.*, 1999; Jacobs y Nesor, 2005; Carpintero y Dellapé, 2006).

El género nominotípico *Thaumastocoris* fue creado por Kirkaldy (1908) para una nueva especie: *T. australicus*. Más tarde, Drake y Slater (1957) describieron otras dos nuevas especies: *T. hackeri* y *T. petilus*, y Rose (1965) describió la cuarta especie del género, *T. macqueeni*. Todas estas especies son originarias de Australia.

Schaefer (1969) comentó sobre las relaciones filogenéticas de la familia y sugirió una relación con los Plokiophilidae; más recientemente, Schuh y Štys (1991) colocaron los Thaumastocoridae en un clado junto con Miridae + Tingidae.

*Thaumastocoris peregrinus* presenta el cuerpo comprimido y alargado, cabeza ancha, ojos pedicelados y placas mandibulares alargadas y notables; con las siguientes características: longitud total: 3mm; ancho: 0.96mm; de coloración general marrón claro; brillante; lóbulo pronotal posterior con área central negruzca; ápice del tercer segmento antenal y mitad apical del cuarto negro; márgenes laterales de la cabeza y el yugular, margen anterior del pronoto, banda longitudinal mediana en la mitad apical del escutelo, margen interno del clavus y margen exterior del corion blanquecinos (Fig 1.3). Membrana de hemiélitro blanco opaco, estrechamente marginado con marrón oscuro a lo largo del borde corial (Carpintero y Dellapé, 2006). La cápsula genital masculina es asimétrica y se encuentra orientada hacia la derecha (Fig 1.4). Superficie ventral marrón, cabeza y patas marrón pálido (Noack *et al.*, 2011) El labio de la especie es corto de tres segmentos.



**Figura 1.3:** Adultos de *Thaumastocoris peregrinus*. Detalle del hemielitro.

Esta especie es muy parecida a *T. australicus*, por lo que fue confundida con ella (Jacobs y Naser, 2005; Noack y Coviella, 2005), pero se puede distinguir fácilmente por el pronoto, este lleva un par de tubérculos anterolaterales, que están ausentes en *T. australicus* y en todas las demás especies conocidas del género, así como por el hecho de que la cápsula genital masculina se abre hacia el lado derecho y por los tres dientes oscuros subapicales en el margen interno de la parte delantera y media de la tibia, la cápsula genital de *T. australicus* se abre hacia la izquierda y las tibias anterior y media tienen más dientes en el margen interno de la mitad distal (Carpintero y Dellape, 2006).

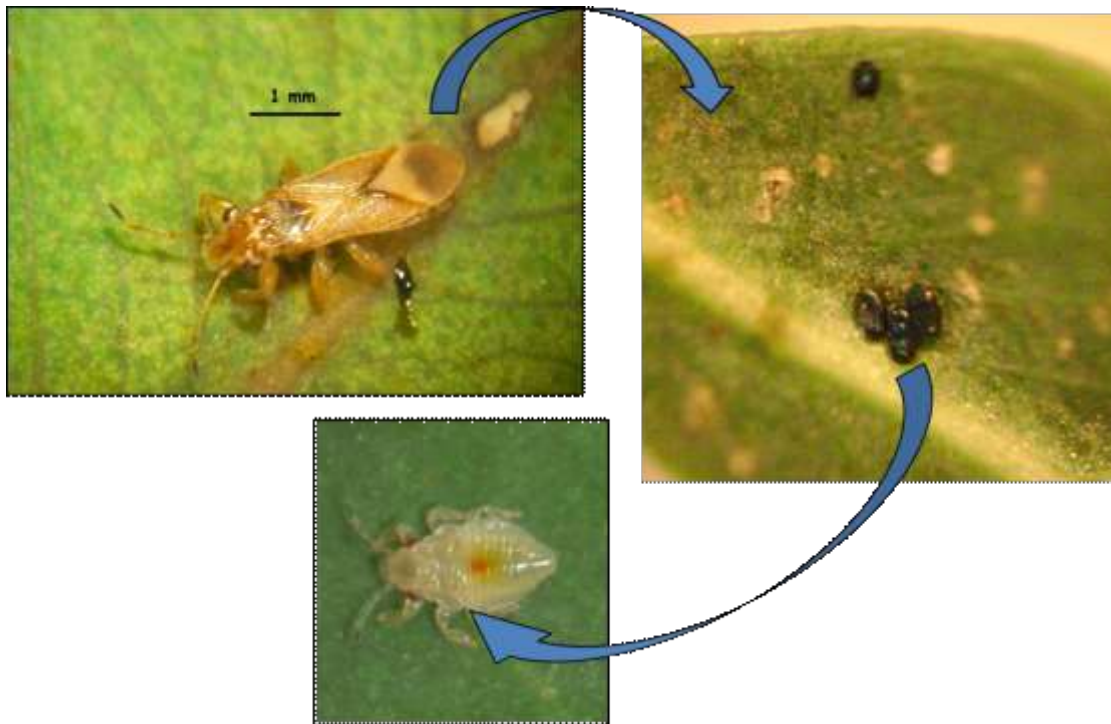
Los huevos son oscuros, ovalados, con un corion y opérculo redondo. Presentan una depresión en el dorso de los mismos y miden 0,5 mm de largo y 0,2 mm de ancho. Las ninfas son naranjas con manchas oscuras en el tórax y primer segmento abdominal.



**Figura 1.4:** Adultos de *Thaumastocoris peregrinus*. a y b- Hembras; c y d- Machos. Vista dorsal y ventral respectivamente.

*T. peregrinus* presenta metamorfosis incompleta del tipo paurometabolo, con cinco estadios ninfales (Noack y Rose, 2007) (Fig 1.5). La duración total del estado ninfal es de  $17,2 \pm 1,1$  días a una temperatura de  $25,0 \pm 0,5$  °C, siendo la duración total de la etapa adulta de  $23,0 \pm 2,3$  días, con un periodo de pre-oviposición de  $6,9 \pm 0,6$  días (Martinez *et al.*, 2014). En condiciones de laboratorio el promedio diario de producción de huevos por hembras apareadas es de 1,8 a 2,1 huevos por día (Noack y Rose, 2007), siendo la producción total por hembra de  $39,5 \pm 6,1$  durante un periodo de oviposición de  $15,5 \pm 2,3$  días (Martinez *et al.*, 2014). Todas las fases de desarrollo pueden presentarse en la misma hoja y varias generaciones pueden desarrollarse en un año. Los

huevos son puestos solos o en grupos, cuando es en grupo se los puede identificar como una mancha oscura y amplia sobre la hoja (Carpintero y Dellapé, 2006).



**Figura 1.5.** Ciclo ontogénico de *Thaumastocoris peregrinus*. Huevo, cinco estadios ninfales y adulto.

Adultos y ninfas tienen un comportamiento gregario y el daño causado a las hojas se debe a la actividad alimentaria. *T. peregrinus* produce puntos cloróticos en la nervadura central de la hoja expandiéndose progresivamente hacia toda la lámina (Santadino *et al.*, 2017). Es un insecto fitosuccívoro cuyo daño lo ocasionan tanto ninfas como adultos al alimentarse de las hojas del hospedante (Noack y Rose, 2007). Cuando las poblaciones aumentan, se produce una fuerte reducción de la tasa fotosintética de las hojas, lo que puede provocar una disminución del crecimiento y en ocasiones producir la defoliación completa del árbol (Ide *et al.*, 2011).

## 1.4- Invasiones biológicas

El traslado y la introducción de especies exóticas fuera de su rango nativo por parte de la actividad humana es una de las amenazas más graves a la biodiversidad a escala mundial. Las invasiones biológicas son uno de los problemas ambientales más serios con los que nos enfrentamos en la actualidad. Como consecuencia del movimiento creciente de bienes y personas entre sitios y regiones, la presión de transporte de propágulos de especies desde sus áreas de origen y hacia ambientes nuevos ha aumentado de manera notable (Lockwood *et al.*, 2005; Seebens *et al.*, 2015; Early *et al.*, 2016). Este proceso se refleja en el aumento constante del número de especies exóticas introducidas de modo deliberado o accidental en nuevos hábitats (Hulme, 2009; Simberloff, 2009; Ricciardi *et al.*, 2017).

Debido principalmente a los procesos poblacionales que operan cuando las densidades son bajas (efectos Allee), sólo una fracción pequeña de las especies que arriban a sitios nuevos logra establecerse y crecer poblacionalmente hasta niveles capaces de generar impactos notorios (Lockwood *et al.*, 2005; Liebhold y Tobin, 2008; Davis, 2009). Sin embargo, esa pequeña proporción es suficiente para considerar a las especies invasoras como una de las principales amenazas tanto para los ecosistemas naturales como para los productivos del planeta. Estas especies pueden generar desequilibrios en la biodiversidad local, alteraciones en los servicios ambientales o provocar pérdidas significativas en la productividad de sistemas agrícolas y forestales (Wingfield *et al.*, 2008; Aukema *et al.*, 2011; Liebhold *et al.*, 2012). Por estas razones, muchas de las especies más conocidas por sus evidentes impactos son especies invasoras, por ejemplo el pulgón de las cupresáceas *Cinara cupressi*, el escarabajo asiático *Anoplophora glabripennis*, la acacia negra *Acacia mearnsii* y el cactus *Opuntia stricta* (Lowe *et al.*, 2000).



### **a. Mecanismos de invasión**

La invasión de una especie en un ambiente nuevo es un proceso secuencial que puede ser descrito sobre la base de mecanismos que definen con claridad tres etapas (Lockwood *et al.*, 2005). El arribo, la etapa inicial del proceso en la cual los individuos son transportados fuera de su rango de distribución nativa hacia nuevas áreas, se encuentra determinado principalmente por el traslado antrópico de propágulos (semillas, esporas, huevos, larvas o reproductivos en latencia). El establecimiento es una etapa crítica en el proceso de invasión, en esta etapa las poblaciones son típicamente pequeñas y deben incrementar sus tamaños hasta niveles tales que minimicen los riesgos de extinción local. Por último, la expansión, momento o fase del proceso en la cual las poblaciones incrementan su rango de ocupación geográfica en el área invadida. Esta etapa se encuentra determinada por la combinación de mecanismos dispersivos y reproductivos propios de la especie. Mientras que durante la fase de arribo no intervienen procesos poblacionales, el éxito de establecimiento y expansión en un ambiente foráneo dependen fuertemente de rasgos propios de la historia de vida y de la dinámica poblacional de las especies, así como de los atributos de la comunidad hospedadora (Liebhold y Tobin, 2008).

El manejo de especies invasoras plantea desafíos nuevos para el tradicional esquema de manejo integrado de plagas. En este contexto, se presenta una serie de factores críticos de consideración básica al momento del diseño de las acciones de manejo de la invasión. El análisis de riesgo de arribo y establecimiento, el desarrollo de métodos sensibles para la detección temprana, así como el conocimiento de la historia de invasión en otras regiones y de las características ecológicas y de comportamiento de las especies, son factores que, en conjunto, afectan la capacidad de manejo de las especies invasoras. De este modo, es importante que el esquema de manejo no sólo sea dinámico sino también que considere la ecología de la invasión en sentido amplio, como los elementos que contribuyen al éxito de invasión y mediante tecnologías validadas bajo las condiciones de los ambientes invadidos.

Como mencionamos anteriormente, las invasiones biológicas por transporte antrópico de especies, tanto intencional como inadvertido son una de las mayores amenazas actuales a la conservación de la biodiversidad (Vitousek *et al.*, 1996; Jackson *et al.*, 2010). Muchos estudios recientes muestran que el número de invasiones biológicas se ha incrementado drásticamente en los últimos cinco siglos, que el incremento se está acelerando y que la actividad humana es la principal causa del fenómeno (Pascal *et al.*, 2010; Genovesi *et al.*, 2014; Latombe *et al.*, 2017). Las especies invasoras, que rápidamente colonizan grandes áreas, ofrecen una excelente oportunidad para la investigación en biología de poblaciones dadas las estrategias que utilizan para colonizar nuevos ambientes y el cambio que provocan en las comunidades ya establecidas (Huey *et al.*, 2000; Tsutsui *et al.*, 2000, Sakai *et al.*, 2001, Wilson *et al.*, 2009, Gao y Reitz., 2017).

A partir del trabajo clásico de Elton (1958), la Biología de Invasiones obtuvo un estatus de disciplina independiente, que continúa generando herramientas metodológicas y marcos teóricos propios aún hasta nuestros días (Davis, 2009). El desarrollo conceptual y metodológico de la biología de invasiones se centró en responder tres preguntas fundamentales (Mooney y Drake, 1989):

- Acerca de la invasividad: ¿Qué factores determinan si una especie será invasiva o no?
- Acerca de la invasibilidad: ¿Cuáles son las características del ambiente que lo hacen vulnerable o resistente a las invasiones?
- Acerca de las medidas de control: ¿De qué manera puede ser usado el conocimiento adquirido al responder las anteriores dos preguntas para desarrollar estrategias efectivas de control y manejo?

Una de las preguntas prioritarias de la Biología de las Invasiones es aquella relacionada con los determinantes de la invasividad: ¿por qué hay especies más

invasivas que otras? La estrategia propuesta por Van Kleunen *et al.* (2010) para dar respuesta a dicha pregunta consiste en dilucidar los factores ecológicos y genéticos involucrados en el ingreso y expansión de una dada especie. Los estudios de procesos ecológicos se suelen preguntar de qué manera la invasividad está asociada con las interacciones competitivas, de parasitismo o predación que la especie introducida genera con las especies previamente establecidas (Crawley, 1989, Colautti *et al.*, 2004) y de la estabilidad de la comunidad nativa (May y McLean, 2007). Por su parte, los estudios sobre procesos genéticos se preguntan de qué manera la invasividad de las especies está asociada con la variación genética de caracteres adaptativos y de la plasticidad fenotípica (Fanara *et al.* 2006; Carreira *et al.*, 2011) que exhiben dichos caracteres de las especies invasoras en el rango geográfico donde fueron introducidas (Hänfling, 2007) para comprender los mecanismos y estrategias de invasión (Shea y Chesson, 2002). Los estudios de desempeño de *T.peregrinus* abordados en esta tesis, contemplan la invasividad de la especie, en particular sobre las seis especies de Eucalipto más abundantes en Argentina y objeto de los estudios.

La invasibilidad, por su parte, describe la susceptibilidad de un ambiente a la colonización y establecimiento de nuevas especies (Davis *et al.*, 2000, Van Kleunen *et al.*, 2010). La capacidad de las especies invasoras para establecerse en una nueva comunidad depende de varios factores como, la existencia de los recursos disponibles, y otros atributos del nuevo ambiente como la presencia o ausencia de enemigos naturales (depredadores o patógenos) y la medida en que las condiciones abióticas del entorno original coinciden con el nuevo ambiente. Estas características influyen en la probabilidad que el propágulo invasor se establezca en primer lugar y posteriormente se disperse ampliando su área de distribución (Drake y Lodge 2004, Schreiber y Lloyd-Smith 2009). Más allá de la ubicuidad de distintas especies de Eucalipto presentes en abundancia en Argentina, esta tesis, aborda la invasibilidad bajo la hipótesis de la falta de controladores naturales en el nuevo ambiente, de cómo *T. peregrinus* se encuentra, al menos presumiblemente, en los primeros estadios de integración dentro de la red

trófica relacionada a *Eucalyptus* spp. y de cómo, las distintas especies de *Eucalyptus* presentes y sus distintas combinaciones de aceites esenciales, se reflejan en las preferencias de alimentación y oviposición de este insecto.

Respecto al desarrollo de estrategias efectivas de control y manejo de las especies plagas, se requiere de dos aspectos que, en forma conjunta, actúen de modo de garantizar éxito en las estrategias (Dent, 1995). Por un lado, la información de base que permita caracterizar los factores que describen la invasividad e invasibilidad, es fundamental para la toma de decisiones. Por otro lado, la capacidad de generar respuestas que reduzcan los efectos perjudiciales de la especie invasora plaga. A pesar de que aún es imposible evitar el empleo de plaguicidas, en los últimos años se han propuesto estrategias tendientes a formular un manejo integrado de plagas donde el uso de controles biológicos como parasitoides y predadores (Murúa *et al.*, 2006, Riquelme y Botto 2010, Savino *et al.*, 2017) o la utilización de técnicas de control genético como la del macho estéril (Cladera *et al.*, 2014), el manejo de hábitat, o las modificaciones de prácticas de cultivo, permiten en conjunto un control más eficiente de la plaga minimizando los riesgos ambientales y sin tantos efectos perjudiciales (Dent, 1995).

En este contexto, el problema que se propuso estudiar en esta tesis, es el de la reciente introducción en la Argentina de *Thaumastocoris peregrinus*, un insecto que es plaga en *Eucalyptus* spp., de la cual se tiene muy poca información (Heiss y Popov, 2002). Con sus tres subfamilias y aproximadamente 20 especies descritas en el mundo, la biología de las especies de esta familia es casi enteramente desconocida. Las asociaciones con distintas especies de eucalipto, aspectos básicos de la biología, tales como preferencia, desempeño, supervivencia y fecundidad, así como de sus enemigos naturales, son aspectos sobre los cuales no existe prácticamente ninguna información para esta especie y que deben ser estudiados para establecer un plan de manejo de la plaga que minimice su impacto sobre uno de los principales cultivos forestales de Argentina.

## 1.5- Objetivos generales

Siguiendo este marco teórico, en esta tesis se estudian aspectos referidos a la invasividad de *T. peregrinus*, la invasibilidad local y el manejo integrado de esta especie.

Los objetivos generales planteados en este trabajo de tesis son:

1. Establecer los aspectos más relevantes de la biología de *T. peregrinus*, mediante estudios de:
  - a. preferencia de alimentación (Capítulo II y III),
  - b. preferencia de oviposición (Capítulo IV) y
  - c. desempeño (Capítulo IV).
2. Determinar la influencia de los perfiles de aceites esenciales de distintas especies de eucalipto en el proceso de selección de hospedadores por parte de este insecto (Capítulo III).
3. Relacionar la preferencia de oviposición con los estudios de desempeño sobre distintas especies de eucalipto (Capítulo IV).
4. Verificar la posible existencia de enemigos naturales locales que puedan afectar el proceso de invasión (Capítulo V).
5. Comprobar la factibilidad de utilizar enemigos naturales de *T. peregrinus* presentes en Argentina o introducidos desde su región de origen en Australia (Capítulo V).
6. Comprobar la eficacia de diversos insecticidas como táctica alternativa de control de esta especie (Capítulo V).

## **Capítulo II**

**Comportamiento alimentario de  
*Thaumastocoris peregrinus*: selección,  
aceptación y utilización del recurso.**

## Introducción

La calidad del alimento puede afectar casi todos los aspectos de la ecología de los insectos fitófagos (van Kleunen y Fischer, 2005). Distintos factores y mecanismos favorecen la heterogeneidad de los recursos alimenticios: transporte restringido de nutrientes a subunidades aéreas por arquitectura vascular (Orians y Jones, 2001); química secundaria de las hojas (Hartley y Jones 1997); fenología y desarrollo tisular (hojas jóvenes y viejas); efectos del ambiente abiótico (hojas expuestas al sol o a la sombra); presencia de meristemas en crecimiento (Denno y McClure, 1983); presencia diferencial de enemigos naturales.

Hay que considerar que la mayoría de los insectos fitófagos se alimentan de partes de las plantas ricas en metabolitos secundarios, por lo cual deben poseer los mecanismos para evitarlos o mecanismos fisiológicos de desintoxicación. Además se debe considerar que el hospedero debe satisfacer el desarrollo de la descendencia. En este sentido, la selección del hospedero y el rango de preferencia es determinado en muchos casos por las preferencias del estado adulto para la oviposición (Pöykkö y Hyvärinen, 2003), aunque los efectos varían bajo diferentes condiciones y presiones de selección (Awmack y Leather, 2002).

Los objetivos de este Capítulo consisten en abordar los mecanismos por los cuales *T. peregrinus* elige la planta de la cual se va a alimentar (2.1) y de que manera utiliza ese recurso (2.2).

## 2.1. Selección y aceptación

El estudio del comportamiento de alimentación es un paso crucial a la hora de comprender la biología de los insectos fitófagos, acerca de cómo identifican, seleccionan y aceptan una planta hospedera como alimento y para describir los daños producidos por aquellas especies que adquieren el estado de plaga.

Schoonhoven *et al.* (2005) consideran que la selección de alimento se basa en tres parámetros. El primero es la selección de plantas por el tipo de sustancias químicas que producen y que pueden satisfacer la dieta que el artrópodo necesita para su supervivencia. En segundo lugar características morfológicas propias del artrópodo, tales como el aparato bucal o el tamaño, y en tercer lugar la selección de la parte de la planta de la cual se alimentan de acuerdo a las características fisiológicas del artrópodo.

De acuerdo con Visser (1988), el comportamiento de selección por parte de los insectos fitófagos puede contemplar dos fases: 1) la búsqueda de la planta hospedero y 2) el reconocimiento. La búsqueda de hospedero se relaciona con las acciones del insecto inducidas o mediadas por características de la planta, involucrando los mecanismos y estructuras que actúan en la percepción de los estímulos principalmente visuales y olfativos, que pueden funcionar de manera aditiva en el sistema nervioso central del insecto. El desarrollo de sistemas olfativos, les permitió adquirir la capacidad de distinguir los compuestos volátiles específicos que emiten las plantas, y las variaciones que se presentan de acuerdo con el estado fisiológico y nutricional de la misma, así como las interacciones entre la planta con otros organismos y los cambios sujetos a condiciones climáticas. Respecto de la forma y color de las plantas, son características menos usadas dado que presentan menor variación entre las especies, pero son necesarias para definir los hospederos dentro una atmósfera atestada de moléculas volátiles (Visser, 1988; Bernays y Chapman, 1994). Por otro lado, el reconocimiento se refiere a los mecanismos que inciden en la decisión del insecto de alimentarse y/u oviponer en determinada planta, se refiere a las características



particulares del sistema perceptivo de un herbívoro, y la percepción se puede definir mejor como la forma en que un animal ve e interpreta el ambiente (Dethier, 1969; Kogan, 1994), y a partir de la cual toma sus decisiones.

## **Objetivos:**

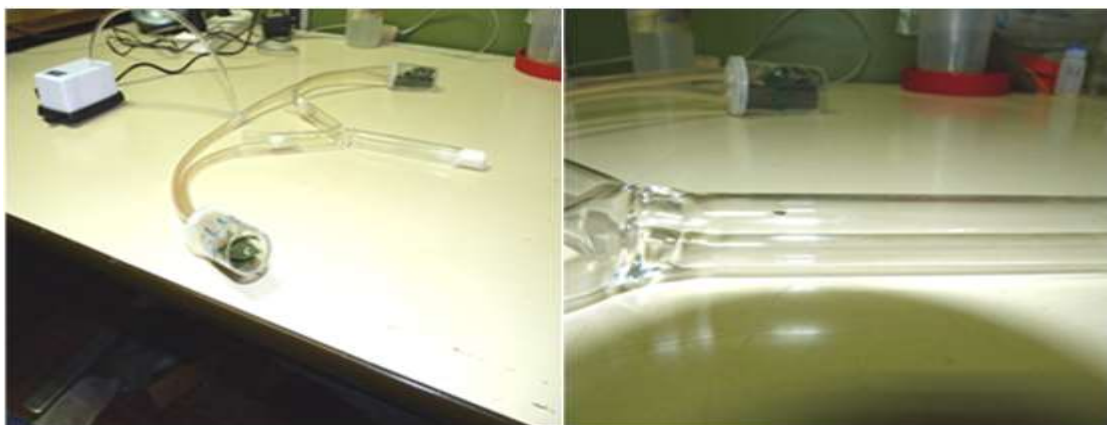
- 1- Evaluar la capacidad de *T. peregrinus* de identificar especies de las plantas hospedadoras mediante el olfato.
- 2- Identificar los mecanismos utilizados por *T. peregrinus* para aceptar una planta hospedadora como fuente de alimento.

## **Materiales y métodos**

La metodología utilizada en esta parte de la tesis tiene en cuenta dos aspectos complementarios pero separados de la selección por parte de los insectos. En primer lugar, se plantearon los estudios de comportamiento de alimentación mediante el uso del olfatómetro. Este diseño permite estudiar la capacidad del insecto para detectar la planta hospedadora mediante el uso del sentido del olfato. Al no permitir el acceso directo al material, la determinación de la selección olfativa forma parte de la orientación del insecto hacia la planta hospedadora cuando aún está lejos de la misma. El segundo aspecto tiene que ver con la aceptación de la planta como recurso alimenticio cuando se le permite al insecto el acceso y contacto físico directo. Al permitir el acceso directo y registrar el número de deyecciones, esta segunda parte permite verificar la alimentación efectiva. Tomados en conjunto, ambos ensayos permiten responder acerca de los mecanismos de orientación, aceptación y alimentación efectiva por parte del insecto sobre los distintos recursos ofrecidos.

### a. Respuesta olfativa sin acceso directo al material vegetal ofrecido

La respuesta olfativa sin acceso al material vegetal por parte de *Thaumastocoris peregrinus* se evaluó mediante ensayos de laboratorio. Estos se desarrollaron en el laboratorio de Ecología de la Universidad Nacional de Luján (UNLu), en condiciones de temperatura y humedad controlada ( $23 \pm 3$  °C y 70 - 90 % HR). El material de vidrio y/o de plástico, así como las superficies utilizadas fueron limpiadas meticulosamente primero con agua y luego con alcohol. Posteriormente se secaron con papel absorbente. Para la fabricación del olfatómetro se utilizó como guía el diseño de Ranjith (2007), se utilizó para tal propósito un tubo de vidrio en forma de “Y”, mangueras de goma transparente de igual diámetro y longitud, frascos cilíndricos de plástico, capuchón de tela y un aireador. El dispositivo se instaló sobre una superficie lisa y limpia. Las hojas de cada una de las especies vegetales a contrastar de a pares se cortaron en cuatro y fueron depositadas dentro de los frascos de plástico, los cuales estaban comunicados mediante las mangueras de goma en cada extremo de la sección en “V” del tubo en forma de “Y” del olfatómetro. El aireador se comunicó mediante mangueras idénticas a las anteriores a los frascos con las hojas (Figura 2.1).



**Figura 2.1.** Detalle del diseño del olfatómetro.

En cada ensayo se evaluó el comportamiento de un individuo de *T. peregrinus* realizándose 20 repeticiones para cada combinación de hojas de especies de *Eucalyptus*.

Se utilizó material vegetal fresco, recolectado el día del ensayo del *arboretum* ubicado en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján. Las especies utilizadas fueron: *E. camaldulensis*, *E. globulus* y *E. cinerea*. La selección de estas especies se basó en ensayos previos y observaciones a campo, en los cuales encontramos (Santadino *et al.*, 2008) que *E. camaldulensis* es preferido sobre *E. globulus* y *E. cinerea* es una de las especies que no presenta ningún grado de infestación observado hasta el momento.

En la realización de los ensayos se utilizaron chinches criadas en jaulas dentro del bioterio. Las mismas fueron colectadas en diferentes estadios ninfales de los árboles del *arboretum* de la UNLu. Durante la cría se las alimentó con *E. durni*, ya que esta especie no era de las seleccionadas para los ensayos. Debido a que se observó una mayor presencia de insectos sobre hojas adultas que sobre hojas juveniles, en los ensayos se utilizaron solamente hojas adultas de las tres especies de *Eucalyptus* consideradas. Las mismas se colocaron comparando las especies de a pares en el olfatómetro. Los estímulos olfativos (hojas) se ubicaron a la misma distancia entre sí y equidistantes del insecto.

En cada repetición, la chinche fue privada de alimento durante las 4 hs previas al experimento, colocándose en el extremo del tubo en Y opuesto a las dos ramas del mismo donde estaban los frascos con las hojas. Cada experimento duró cinco minutos. Para determinar si hubo una selección se siguieron los siguientes criterios:

- a. Si el insecto se dirigía a uno de los dos extremos del tubo y permanecía allí.
- b. En caso de visitar ambos extremos del tubo en Y, se decidió por aquel de los extremos en el cual pasó más tiempo.

- c. Si el tiempo durante el cual estuvo en cada lado del tubo en Y fue similar, se decidió a favor de a cuál se dirigió la chinche mayor número de veces.
- d. Cuando el insecto no se dirigió hacia ninguna de las dos ramas del tubo en Y, se considero empate.

**b- Respuesta alimentaria con acceso al material ofrecido (ensayo de libre elección)**

La respuesta alimentaria de *T. peregrinus* se evaluó mediante ensayos de laboratorio. En frascos de vidrio de 1 litro (Figura 2.2), se colocaron dos floreros equidistantes con las mismas combinaciones de eucalipto utilizadas en el ensayo anterior.

Se colocó un insecto por frasco y se realizaron 20 repeticiones para cada una de las combinaciones de eucalipto evaluadas. Al cabo de 48 horas se determinó la selección por parte del insecto contando el número de deyecciones en las hojas de cada una de las dos especies comparadas. Las deyecciones se utilizaron como evidencia de alimentación efectiva.



**Figura 2.2.** Detalle de la arena experimental.

### **c- Análisis Estadístico**

Se realizó un diseño completamente al azar con 20 repeticiones. Se determinaron diferencias mediante el test de bondad de ajuste  $X_2$  ( $\alpha=0,05$ ) utilizando la corrección de continuidad propuesta por Yates (Zar, 2010).

## **Resultados**

### **a- Respuesta olfativa sin acceso al material ofrecido**

Como muestra la tabla 2.1, los ensayos de respuesta olfativa, sin acceso directo al material, no mostraron diferencias significativas entre las especies evaluadas. En el ensayo de selección entre *E. cinerea* vs *E. camaldulensis*, si bien la diferencia no fue significativa con un  $p = 0,05$ , el valor calculado de chi cuadrado para un  $p= 0,1$  sugiere una posible débil selección positiva por *E. camaldulensis* (Tabla 2.1).

**Tabla 2.1.** Test de chi cuadrado para el análisis de la respuesta olfativa

(1 gl, esperado para  $p = 0,05$ : 3,841;  $p = 0,10$ : 2,707; \*indican diferencias significativas  $p=0,1$ )

Especie comparadas	Respuesta		Valor Calculado de $X^2$
	Observada	Esperada	
<i>E. cinerea</i>	5,5	10	3,2 *
<i>E. camaldulensis</i>	14,5	10	
<i>E. cinerea</i>	10,5	10	0 NS
<i>E. globulus</i>	9,5	10	
<i>E. camaldulensis</i>	10,5	10	0 NS
<i>E. globulus</i>	9,5	10	

#### b- Respuesta alimentaria con acceso al material vegetal ofrecido

Los ensayos de la respuesta alimentaria mostraron resultados diferentes a los observados en el olfatómetro. La tabla 2.2, muestra la fuerte selección positiva por *E. camaldulensis*. En los ensayos *E. camaldulensis* vs *E. cinerea* y *E. camaldulensis* vs *E. globulus*, en todas las repeticiones las chiches eligieron al primero, y en ambos casos con un grado de confianza del 99,9 %. En el ensayo *E. cinerea* vs *E. globulus* los resultados no muestran una diferencia hacia ninguna de las dos especies (Tabla 2.2).

**Tabla 2.2.** Test de chi cuadrado para el análisis de la respuesta alimentaria.

(1 gl, valor esperado para  $p = 0,01$ : 10,828;  $p = 0,05$ : 3,841;  $p = 0,10$ : 2,707; \*\*indican diferencias significativas  $p=0,01$ ).

Especie comparadas	Respuesta		Valor Calculado de $X_2$
	Observados	Esperado	
<i>E. cinerea</i>	0	10	18,05 **
<i>E. camaldulensis</i>	20	10	
<i>E. cinerea</i>	6,5	10	1,8 NS
<i>E. globulus</i>	13,5	10	
<i>E. camaldulensis</i>	20	10	18,05 **
<i>E. globulus</i>	0	10	

## Discusión

Los ensayos realizados en este capítulo, permitieron estudiar los mecanismos de selección del insecto cuando el mismo tiene o no acceso físico al material vegetal ofrecido. Los resultados obtenidos indican que posiblemente el sentido del olfato, al menos para las especies evaluadas, no parece jugar un papel importante en la decisión de *T. peregrinus*. Por el contrario, cuando los adultos tienen acceso al material, los resultados son significativamente distintos y resultan similares a los encontrados por otros autores (Jacob y Nesar, 2005; Ide *et al.*, 2011).

En efecto, el Tabla 2.1 muestra que en el olfatómetro, la conducta de *T. peregrinus* evidencia una posible pero débil selección, aunque solamente para *E. camaldulensis* y cuando se lo compara con *E. cinerea*. En los ensayos de respuesta alimentaria, donde se le permite al individuo acceso físico directo, el insecto muestra una muy marcada preferencia positiva por *E. camaldulensis*, mientras que *E. cinerea*, no es preferido en ninguno de los casos.

Estos resultados coinciden con las observaciones de campo, donde las mayores densidades poblacionales se observan usualmente sobre *E. camaldulensis* (observación personal).

En el caso de la comparación entre *E. globulus* y *E. cinerea*, el insecto no mostró preferencia por ninguna de estas dos especies ni en el olfatómetro sin acceso al material, ni en los ensayos de respuesta alimentaria con acceso físico al mismo. Sin embargo, observaciones a campo mostraron presencia de *T. peregrinus* sobre árboles de *E. globulus*, y no así sobre árboles de *E. cinerea* que no presentan daños ni presencia física del insecto sobre sus copas (observación personal).

La especie *E. cinerea* posee aceites con efectos larvicidas sobre *Aedes aegypti*, mosquito vector del dengue (Cavalca *et al.*, 2010), lo que puede ser una causa de la ausencia de poblaciones de *T. peregrinus* sobre este árbol, así como tampoco síntomas de ataques y daños sobre las hojas. La ausencia de diferencias entre *E. cinerea* y *E. globulus* en el olfatómetro sugiere que el motivo por el cual no hay a campo poblaciones de *T. peregrinus* sobre árboles de la primera especie mencionada, no es a causa de poseer sustancias repelentes volátiles en sus hojas, pero esto debería ser corroborado con análisis químicos. En los ensayos con acceso físico al material vegetal *T. peregrinus* eligió a *E. cinerea* en pocas ocasiones.

En el caso de *E. globulus*, el insecto no tiene preferencia olfativa por esta especie en ninguno de los casos. En los ensayos de respuesta alimentaria con acceso al material,



tampoco presenta preferencia y al ser comparado contra *E. camaldulensis*, éste último es fuertemente seleccionado positivamente por el insecto. Sin embargo la presencia de *T. peregrinus* se registra en plantaciones forestales de *E. globulus* lo que muestra que puede tener insectos, aunque no es la hospedadora preferida.

Luego de determinar la manera de elegir el alimento, resulta por lo tanto de interés, conocer el comportamiento alimentario cuando el insecto se encuentra en contacto directo con el sustrato vegetal y registrar en qué tejido vegetal ocurre efectivamente la alimentación.

## 2.2 Utilización del recurso

Para analizar el daño a los cultivos agrícolas es útil estudiar el comportamiento de alimentación de los insectos, ya que proporciona información sobre su biología y ecología (Backus *et al.*, 2005, Behmer, 2009). Sin embargo, la capacidad de observar el comportamiento de alimentación depende en gran medida de los hábitos de los insectos. Los hemípteros son difíciles de estudiar por observación directa porque la mayoría de sus secuencias conductuales de alimentación ocurren dentro de los tejidos de las plantas.

La familia Thaumastocoridae pertenece al suborden Heteroptera, infraorden Cimicomorpha, que también incluye especies fitófagas pertenecientes a las familias Tyngidae y Miridae. Se sabe que los cimicomorfos, como los de estas familias, emplean como estrategia de alimentación el lacerado de las células y la succión (Miles 1968, 1972; Backus 1988), que más recientemente se ha rebautizado como "cell-rupturing" o ruptura celular (Backus *et al.*, 2005). Estos insectos usan los estiletes para lacerar vigorosamente las células vegetales en un área pequeña, secretando simultáneamente saliva acuosa en las capas celulares rotas, y luego ingieren el fluido resultante (Backus *et al.*, 2007). Los insectos que exhiben este comportamiento alimentario de ruptura celular

se denominaron principalmente alimentadores de mesófilo (Miles, 1968), sin embargo, se ha informado que también podrían ingerir desde sitios secundarios, como las células de los haces vasculares (Backus, 1988; Wheeler, 2001). Estos hábitos de alimentación se han documentado en especies de las familias Tyngidae (Buntin *et al.*, 1996; Johnson y Lyon, 1994; Mathen *et al.*, 1988; Pollard, 1959) y Miridae (Wheeler, 2001; Backus, 2007; Castañé *et al.*, 2011). Entre los Thaumastocoridae, los estudios sobre el comportamiento de alimentación son escasos y están especialmente relacionados con los hábitos de alimentación y el daño macroscópico producido en sus plantas hospedadoras (por ejemplo, daños producidos por la chinche de la palma real, *Xylastodoris luteolus* Barber (Schuh y Slater, 1995; Hill y Schaefer, 2000). Sin embargo, la estrategia de alimentación de *T. peregrinus* no está claramente documentada. Algunos estudios sugieren que emplea como estrategia de alimentación el lacerado de las células y la succión, por el daño que se observa en la superficie de la hoja (González *et al.*, 2012), mientras que otros autores lo clasifican como un insecto que se alimenta mediante la succión de fotoasimilados (Laudonia y Sasso, 2012; Oumar y Mutanga, 2014; Nadel *et al.*, 2015).

De acuerdo a los resultados obtenidos previamente, surge la necesidad de entender cuál es la fuente de alimentación. Por lo que los objetivos de esta sección fueron:

1. Describir la actividad alimentaria de *T. peregrinus* sobre hojas de *Eucalyptus* sp.
2. Identificar su fuente primaria de alimentación.

## **Materiales y métodos**

### **Plantas e insectos**

Para este ensayo se usaron hojas adultas de *Eucalyptus camaldulensis*. Las hojas se obtuvieron de árboles de diez años, cultivados en el arboretum del campo experimental de la Universidad Nacional de Luján, (UNLu), Luján, Buenos Aires, Argentina (34° 34' 41" S 59° 05' 14" O). Para los experimentos, utilizamos hojas maduras que se recogieron el mismo día de los ensayos. Seleccionamos esta especie porque es la que exhibe mayor preferencia por parte del insecto. Como información complementaria, *E. camaldulensis* es una de las especies más cultivadas en Argentina (Invernoz, 2011).

Los insectos fueron criados en plantas de *E. camaldulensis* en una cámara de crecimiento JEIO Tech GC-300/1000 a una temperatura de  $24 \pm 2$  ° C,  $60 \pm 2\%$  de HR, y 16L: 8D de fotoperíodo. Se usaron ninfas de 4to y 5to estadio y hembras adultas de *T. peregrinus*.

#### **a- Sitio de alimentación**

A una hembra de *T. peregrinus* (0-5 d de edad) con 1 día de ayuno se le ofrecieron durante 2 días, hojas de *E. camaldulensis* para su alimentación. El área experimental se limitó usando cámaras de alimentación, con un diámetro de exposición de 3 cm. Se usaron hojas sin acceso del insecto como controles. Las hojas de control y daño se fotografiaron utilizando un microscopio estereoscópico LEICA EZ5 equipado con una cámara digital RRID 18 HD. Con el fin de detectar evidencia de actividad de alimentación, se cortaron pequeños bloques de las hojas expuestas, se fijaron en una solución de formaldehído-ácido acético-alcohol (FAA) (90 ml de etanol al 70%; 5 ml ácido acético glacial y 5 ml de formaldehído (38%) durante 12 h a temperatura

ambiente, deshidratado en una serie estándar de etanol, incrustado en Paraplast, y seccionado en serie a 10  $\mu\text{m}$ . Las secciones se tiñeron con 0,5% de safranina roja acuosa y 0,1% de etanol verde rápido, y se cubrieron con Eukkit. Las secciones transversales de las hojas se examinaron con un microscopio óptico Nikon YS2-H equipado con una cámara digital Nikon D40. Se realizaron 20 réplicas.

## **b- Detección de clorofila**

### **i- Espectrofotometría**

Para detectar la posible presencia de clorofila dentro del aparato digestivo de los insectos, se usaron abdómenes enteros ( $n = 10$ ) e intestinos ( $n = 10$ ) de adultos y ninfas de *T. peregrinus*. Los intestinos se obtuvieron a partir de disecciones utilizando agujas delgadas bajo un microscopio estereoscópico LEICA EZ5. Se maceraron por separado los intestinos y los abdómenes de cada etapa de desarrollo en 0,5 ml de acetona al 80% (Porra *et al.*, 1989) y se usó un espectrofotómetro (Shimadzu UV-160A) para determinar los espectros de clorofila.

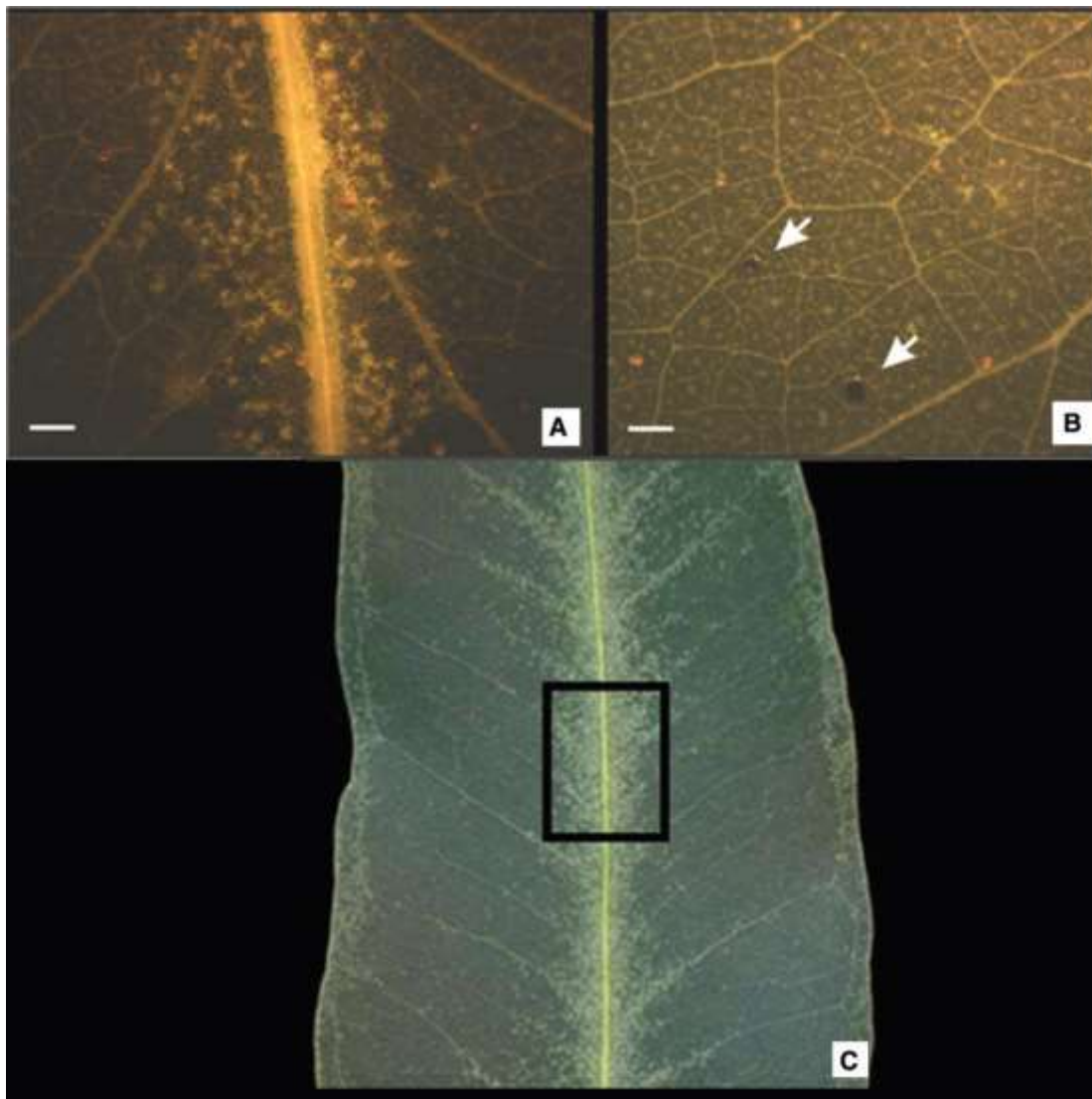
### **ii- Escaneo láser confocal y microscopía de fluorescencia**

Para confirmar la detección de clorofila por fluorescencia, cinco cortes de hojas de *E. camaldulensis*, cinco individuos adultos y cinco ninfas de *T. peregrinus* se observaron bajo un microscopio confocal de escaneo láser LEICA TCS SP5. Los ajustes de excitación / emisión para clorofila fueron 633 / 650-730 nm (Carrión *et al.*, 2013) y se determinaron para cada muestra en un punto los espectros de clorofila. Además, se observaron ninfas ( $n = 5$ ) y adultos ( $n = 5$ ) bajo un microscopio Olympus BX-51 de epifluorescencia con un espejo dicróico de paso largo (corte de longitud de onda de 505 nm).

## Resultados

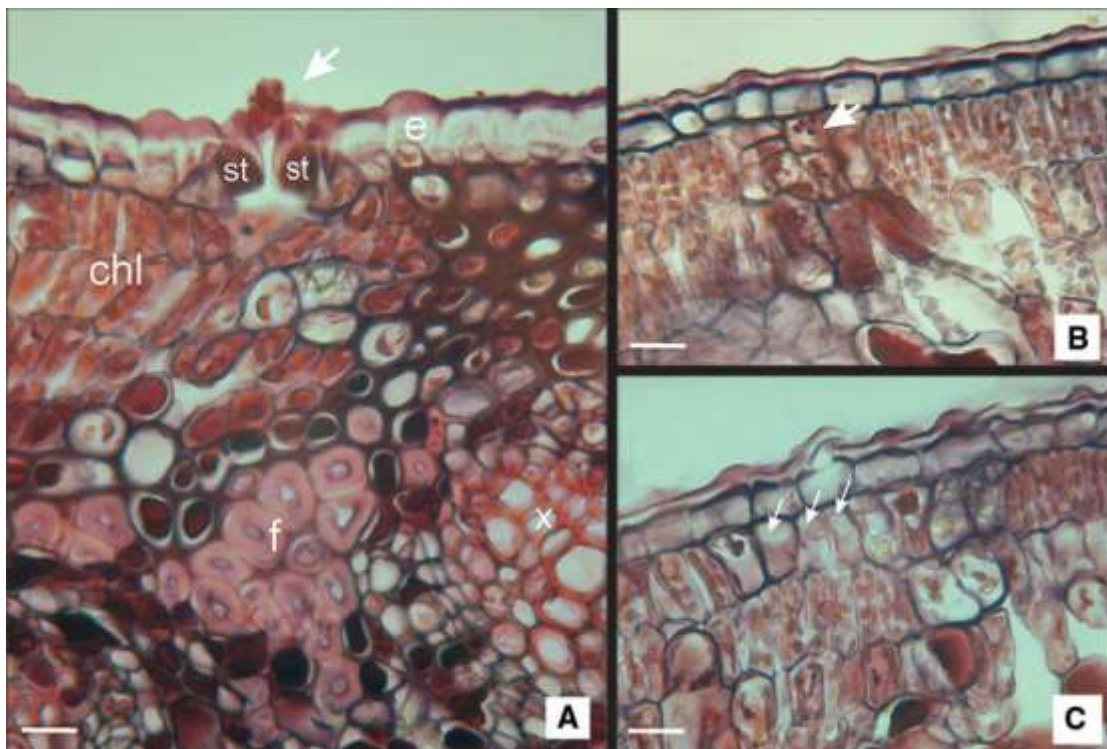
### a- Sitio de alimentación

Después de 2 días de alimentación de *T. peregrinus* sobre hojas de *E. camaldulensis*, se visualizaron manchas cloróticas puntiformes en las superficies abaxiales de las hojas cerca de la nervadura principal (Fig. 2.3a). Además, se detectaron varias gotas de excreción (color verde oscuro) en el área de alimentación (Fig. 2.3b).



**Figura 2.3.** A: Detalle de las manchas cloróticas puntiformes en la superficie abaxial de la hoja de *Eucalyptus camaldulensis* después de 2 días de alimentación de *T. peregrinus*. B: Gotas de deyecciones verde oscuras marcadas con flechas. C: Contexto de la imagen A. Barra de escala: 1 cm.

En las secciones histológicas, se detectaron depósitos salivales (saliva sólida) en relación con las células epidérmicas y estomáticas (Figura 2.4 a), lo que indica que la penetración del estilete puede ocurrir a través de ellas. La actividad de alimentación también se detectó en algunas células subepidérmicas (clorénquima); algunas células mostraron una disposición y apariencia de cloroplastos atípica (figura 2.4 b) o una eliminación completa de ellas (figura 2.4c).



**Figura 2.4.** Secciones histológicas transversales de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* luego de la alimentación de *T. peregrinus*. A: Depósito salival (flecha) en relación con las células estomáticas. B: Disposición atípica de cloroplastos en las células subepidérmicas (clorénquima) (flechas); C: eliminación de cloroplastos (flechas) en las células de clorénquima. e: célula epidérmica; st: célula estomática; chl: células del clorénquima; f: fibra (células del esclerenquima); x: xilema (tejido vascular). Barra de escala: 25  $\mu$ m.

## b) Detección de clorofila

### i- Espectrofotometría

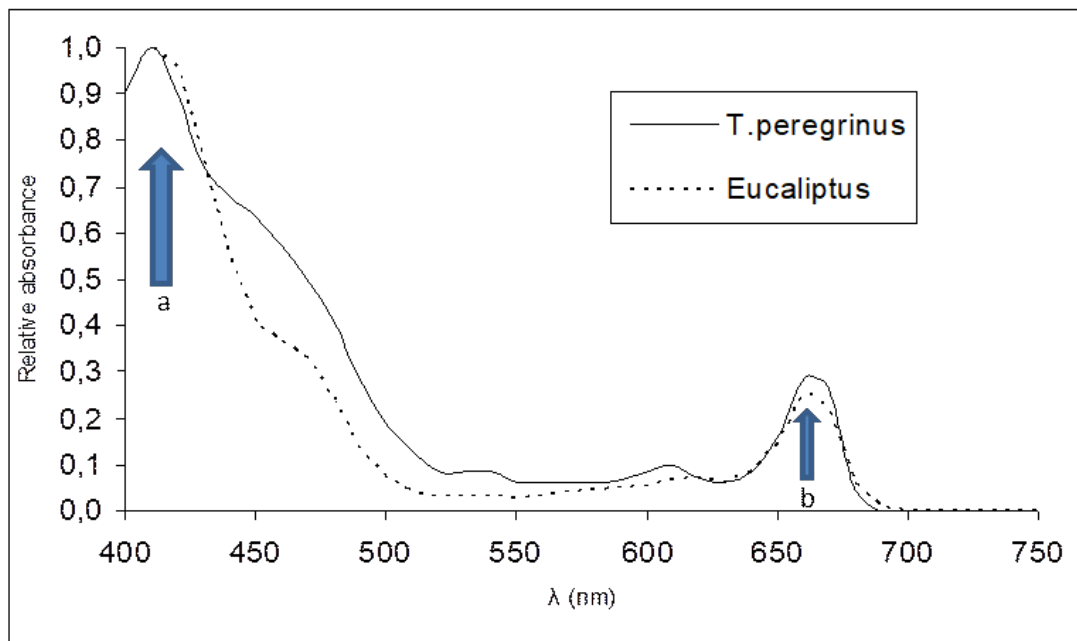
Los intestinos disectados tanto de adultos como de ninfas de *T. peregrinus*, mostraron un color verde (Fig. 2.5).



**Figura 2.5.** Abdomenes disectados de *T. peregrinus* mostrando clorofila en el interior del intestino (flecha). Barra de escala: 1mm. Imagen tomada usando un microscopio estereoscópico (LEICA EZ5) equipado con cámara digital (RRID 18 HD).

Los intestinos macerados y abdómenes enteros, así como las hojas de *E. camaldulensis*, mostraron un espectro casi idéntico ( $r = 0,97$ ), con picos a 411 nm y 665 nm (Fig. 2.6). La diferencia entre nuestros resultados y la clorofila típica con un pico de 430 nm podría ser debido a la interferencia de otros pigmentos y tejidos internos de *T. peregrinus*, pero el pico de 665 nm corresponde claramente a la clorofila e indica sin duda alguna su presencia en el tracto digestivo de los insectos.

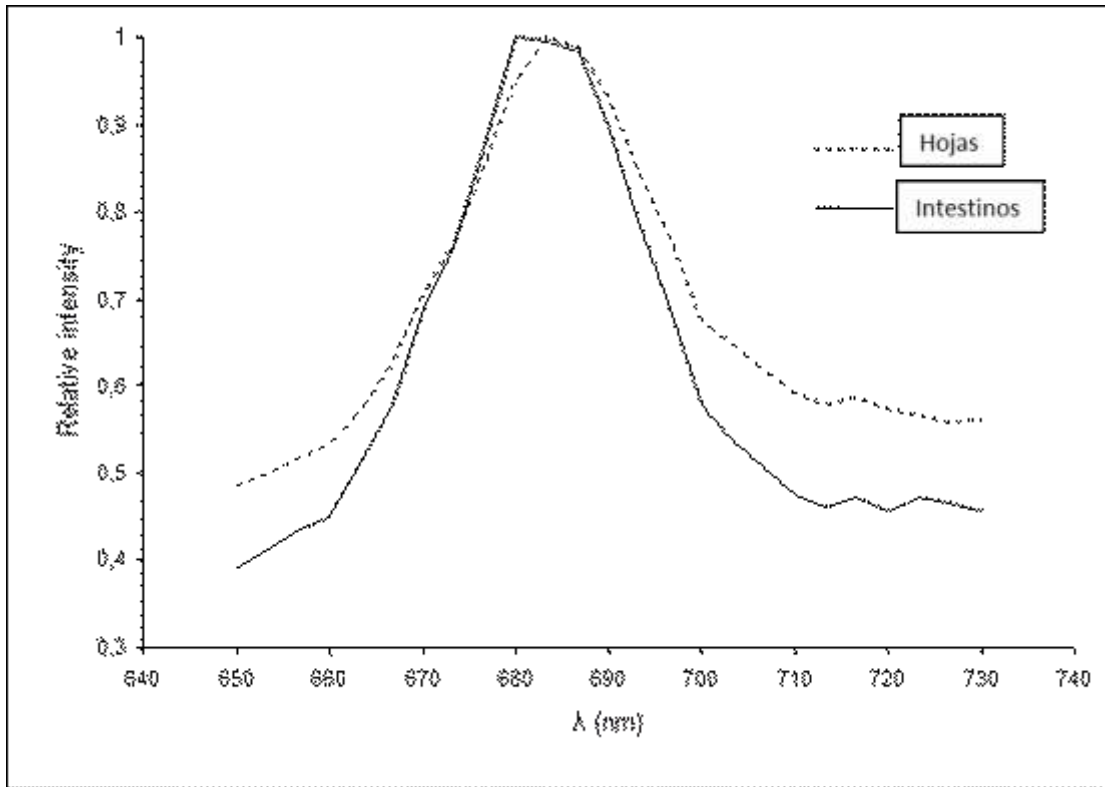




**Figura 2.6.** Espectros de absorbancia obtenidos de macerados con Acetona al 80 % de hojas de *Eucalyptus camaldulensis* (línea punteada) e intestinos de *Thaumastocoris peregrinus* (línea continua).  $r:0,97$ . Los valores relativos de absorbancia fueron calculados a la máxima intensidad obtenida para cada muestra. Las flechas muestran los picos de absorbancias a: 410nm y b: 664nm.

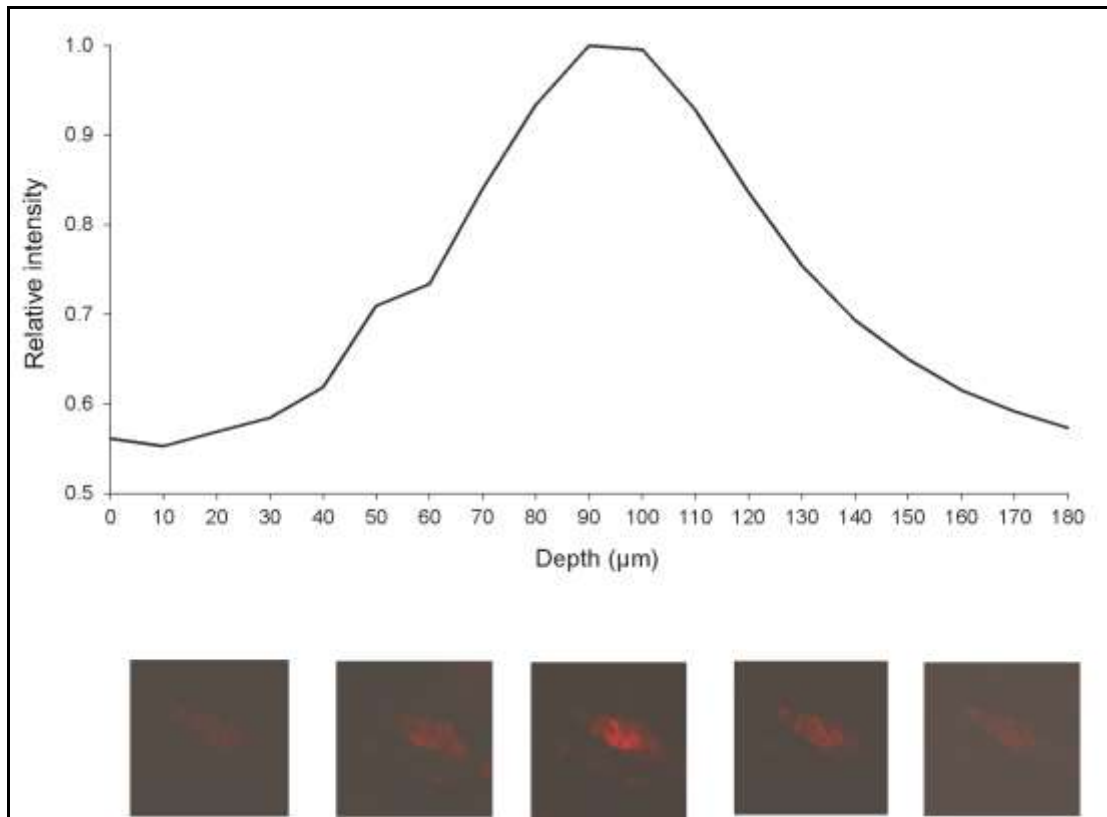
## ii. Escaneo láser confocal y microscopía de fluorescencia.

El espectro obtenido mediante microscopía confocal mostró picos de absorbancia casi idénticos ( $r = 0,99$ ) para las hojas de *E. camaldulensis* y los abdómenes de *T. peregrinus* (Fig. 2.7).



**Figura 2.7.** Espectros fluorescentes *in situ* de hojas de *Eucalyptus* e intestinos de *Thaumastocoris peregrinus* obtenidas a partir de imágenes confocales. Los ajustes de Excitación / Emisión fueron 633 / 650-730nm y los picos resultantes fueron 683 nm para la hoja y 680 para los intestinos. Los valores de intensidad relativa se calcularon con respecto a la intensidad máxima obtenida para cada imagen.

La clara identificación de clorofila en el tracto digestivo de individuos de *T. peregrinus* (n = 10) a través de microscopía confocal se muestra en la figura 2.8. Las imágenes de replanteo mostraron una mayor intensidad relativa dentro del abdomen (alrededor de 90-100 nm de profundidad) claramente relacionada con el contenido del interior intestinal.



**Figura 2.8.** Ubicación de la clorofila en la sección transversal del intestino de *Thaumastocoris peregrinus*, a través de microscopía confocal. Las imágenes se tomaron a intervalos de 10  $\mu\text{m}$  de profundidad a través del abdomen y la intensidad relativa se midió como se muestra en las imágenes a continuación. Los ajustes de excitación / emisión fueron 633 / 650-730 nm.

Las observaciones con microscopía de epifluorescencia también mostraron la presencia de clorofila dentro de los abdomenes de *T. peregrinus*, que se visualizó de color rojo (Fig.2.9).



**Figura 2.9.** Imágenes de microscopio de epifluorescencia, la flecha indica la presencia de clorofila dentro del intestino de una ninfa de *Thaumastocoris peregrinus*.

## Discusión

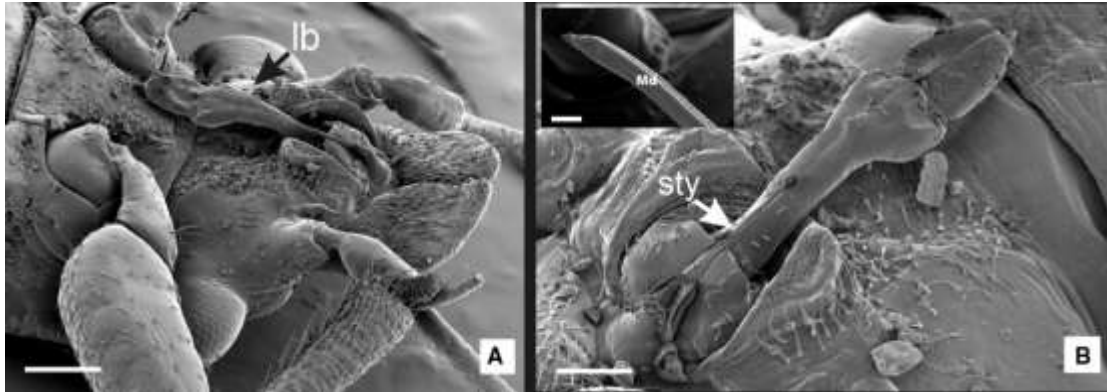
Este es el primer estudio que muestra una fuerte evidencia de que *T. peregrinus* se alimenta del mesófilo de hojas de Eucalipto y que esta especie produce depósitos salivales durante la penetración del estilete, lo que permite una identificación clara de los puntos de alimentación.

Los resultados muestran que después de la alimentación, *T. peregrinus* produce manchas cloróticas cerca de la vena principal de las hojas de *E. camaldulensis*. Esta evidencia macroscópica es consistente con la eliminación de cloroplastos observados en secciones transversales de células con clorénquima en empalizada de la subepidérmis.

También es coincidente con la pérdida de superficie fotosintética en las hojas relacionada con el daño por alimentación de *T. peregrinus* descrito por Jacobs y Neser (2005). Del mismo modo, estudios realizados por Buntin *et al.* (1996) mostraron que el daño físico del tejido en empalizada producido por la alimentación del tingido *Stephanitis pyrioides* (Scott) explicaría la clorosis de la hoja observada en hojas de la azalea (*Rhododendrum* sp.).

En secciones transversales de hojas de *E. camaldulensis*, la presencia de saliva sólida en la epidermis indica la actividad de alimentación *T. peregrinus*. Esta saliva sólida ha sido denominada "flange" por Miles (1972) y se relacionó con el punto donde comenzó la penetración de los estiletes (fig 2.10). La saliva sólida en relación con las células epidérmicas y los estomas, indica que la penetración del estilete puede ocurrir a través de ellos. Del mismo modo, la penetración del estilete a través de estomas se informó para las especies de tingidos, como las chinches de encaje *Urentius aegyptiacus* Bergevin que se alimenta de *Solanum melongena* L. (Pollard, 1959), y *Stephanitis pyrioides* (Scott) alimentándose de azalea (*Rhododendrum* sp.) (Buntin *et al.*, 1996). La saliva sólida producida por *T. peregrinus* solo se detectó en la superficie de la hoja y no se continuó en los tejidos internos de la planta. Estas observaciones concuerdan con Miles (1972) que informó que los grupos fitófagos dentro de Cimicomorpha, como Tingidae y muchas especies de Miridae, no producen una saliva solidificante de aspecto tubular, conocida como vaina-estilete, que caracteriza el comportamiento de los insectos que se alimentan de los haces vasculares.

Los resultados presentados aquí también muestran que la actividad de alimentación ocurre en las células subepidérmicas (tejido en empalizada). De acuerdo con estos resultados, Miles (1972) afirmó que los tingidos pequeños se alimentan de células individuales o de un pequeño número cerca de la epidermis, y Wheeler (2001) informó que la lesión producida por los miridos fitófagos al alimentarse del parénquima en empalizada se limita principalmente a las células que realmente penetraron.



**Figura 2.10.** Microfotografías electrónicas de barrido de las piezas bucales de *Thaumastocoris peregrinus*. La morfología macroscópica de las piezas bucales se asemeja a otros hemípteros fitosuccivoros. A) El labio (lb) que se extiende hasta el nivel de la coxa anterior; Barra de escala: 100 µm. B) labio que alberga estiletes mandibulares y maxilares (sty); Barra de escala: 50 µm. Detalle de estiletes mandibulares (Md) mostrando dentaduras en su región apical extrema. Barra de escala: 10 µm.

Un punto importante que surge de los resultados de este trabajo, es la evidencia de la presencia de clorofila en los abdómenes de adultos y ninfas de *T. peregrinus*. El espectro obtenido mediante espectrofotometría mostró una coincidencia entre el espectro de absorbancia de los insectos macerados y el del macerado de hojas de *E. camaldulensis*, así como el espectro obtenido mediante escaneo con láser confocal. La microscopía de fluorescencia también evidenció la presencia de clorofila en los abdómenes del insecto.

Además, las gotas de excreción de color verde oscuro observadas en este estudio sobre la superficie de la hoja de *Eucalyptus* después de la alimentación de *T. peregrinus*, fueron consistentes con la típica excreción oscura producida por los insectos que se alimentan de mesófilo, tales como los miridos fitófagos entre otros Cimicomorphas

(Wheeler, 2001) y por las chicharritas tiflocibinos entre otros Auquenorrincos (Hunter y Backus, 1989; Brentassi *et al.*, 2010).

Wheeler (2001) sugiere que a pesar de que los miridos fitófagos son principalmente insectos que se alimentan lacerando y succionando en el mesófilo de las hojas, han sido clasificados como fitosuccívoros de fotoasimilados, aparentemente sobre la base de observaciones de campo o tal vez sólo la suposición de que este hábito es común en miridos y otros fitófagos heteropteros. Una presunción similar ocurrió con *T. peregrinus*, ya que fue clasificado como una especie “sap-sucking” por varios autores. Los resultados presentados en este trabajo muestran claramente que *T. peregrinus* se alimenta del parénquima en empalizada (clorénquima) de las hojas de *Eucalyptus*.

Los resultados de los estudios presentados en esta parte de la tesis resultan novedosos e importantes en varios aspectos de la biología alimenticia de esta especie, e incluso confusos en la bibliografía sobre la biología de *T. peregrinus*. En primer lugar, sugieren que el sentido del olfato no influye de manera significativa en la selección de la planta hospedadora. *T. peregrinus* necesita contacto físico directo con la planta para decidir aceptarla como ítem alimenticio. En segundo lugar resulta claro que esta especie no se alimenta lacerando y succionando, ni tampoco de los haces vasculares. El sitio de alimentación es claramente el parénquima en empalizada, y ésta información aclara algunas confusiones al respecto en la bibliografía consultada. El conocimiento de la manera en la que *T. peregrinus* identifica, selecciona y utiliza el recurso alimenticio es un aspecto importante de la biología de esta especie y es relevante para comprender mejor los posibles mecanismos implicados en las lesiones alimentarias observadas en las plantaciones de eucalipto.

Las estructuras defensivas y los productos químicos, tales como los compuestos secundarios, son costosos, ya que requieren recursos que podrían ser utilizados por las plantas para maximizar su crecimiento y/o reproducción. Se han propuesto muchos modelos para explorar cómo y por qué algunas plantas hacen esta inversión energética

en defensas contra la herbivoría. La hipótesis de la defensa óptima intenta explicar cómo los distintos tipos de defensas vegetales podrían reflejar las amenazas a las que se enfrenta cada planta individual. Este modelo considera tres factores principales: el riesgo de ataque, el valor de la parte vegetal, y el costo del mecanismo de defensa (Stamp, 2003; Trumble *et al.*, 1993; Herms y Mattson, 1992).

Las plantas disponen de diversos mecanismos para compensar la herbivoría, (Trumble *et al.*, 1993) pero esta compensación tiene relaciones costo/beneficio que varían a lo largo del ciclo ontológico de la planta y difieren según la especie (Herms y Mattson, 1992). Así, plantas jóvenes, con menos área foliar desarrollada, deberían destinar más recursos a defensa que plantas adultas. De igual manera, la herbivoría sobre distintas partes de la planta tiene distintos efectos sobre la maximización del esfuerzo reproductivo y en consecuencia, distinta relación costo/beneficio respecto de los recursos destinados a su defensa. La hipótesis de la defensa óptima implica que una planta destinará recursos a mecanismos de defensa de manera distinta según el riesgo de herbivoría a distintas partes de la planta y de manera diferencial a lo largo de su desarrollo. De esta manera, las estrategias de defensa de la planta modulan la selección del hospedador por parte de un insecto herbívoro, así como las preferencias de alimentación, y de oviposición sobre un hospedador determinado.

Obtener información acerca de estos aspectos es el centro de los dos capítulos que siguen y resultará de utilidad al momento de determinar especies resistentes a este insecto, dilucidar aspectos acerca de los mecanismos de defensa de sus distintas especies hospedadoras y qué tipos de compuesto resultan relevantes, bien como facilitadores bien como inhibidores, en el comportamiento alimentario. También permitirá determinar qué tipo de translocación se requiere en aquellos casos en que puedan ser de utilidad controles químicos, todos aspectos que serán tratados en el Capítulo 5.



## **Capítulo III**

**Preferencia alimentaria de *Thaumastocoris peregrinus* sobre varias especies de *Eucalyptus***

## Introducción

La selección de las plantas como recurso alimentario por parte de insectos herbívoros es un proceso complejo que involucra tanto las características de las plantas como el comportamiento de los insectos (Bernays y Chapman, 1994; Schoonhoven *et al.*, 2005). Se pueden reconocer diferentes patrones de comportamiento en una secuencia predecible antes de que comience el comportamiento real de la alimentación: la búsqueda del hábitat de la planta hospedante, la ubicación a distancia de la planta hospedante, el reconocimiento del hospedante adecuado, la prueba y la aceptación (Vinson, 1981; Dethier, 1982, Metcalf y Luckmann, 1994).

Desde el punto de vista de la planta, los mecanismos de defensa usualmente se dividen en defensas físicas y una amplia gama de defensas químicas. Mientras que las defensas físicas generalmente impiden el acceso a la planta, las defensas químicas provocan respuestas específicas en el insecto, donde la consecuencia final es un rechazo parcial o total de esa planta como alimento. Estas defensas químicas dependen de la asignación de compuestos que alteran la respuesta de los insectos a la planta. Painter (1951) clasificó estos mecanismos como de tolerancia, antibiosis y no preferencia (ahora antixenosis, Kogan y Ortman, 1978). Desde entonces, se han realizado varios estudios para caracterizar estas categorías de resistencia de plantas contra herbívoros (Smith, 1989; Saldua y Castro, 2011). La antibiosis, afecta a la biología del insecto (Smith, 2005) es decir que afecta los parámetros poblacionales. Son aquellos factores que implican defensas químicas y morfológicas de las plantas que producen mortalidad de insectos, reducción de la oviposición y un ciclo de vida prolongado. La tolerancia representa la capacidad de los hospedantes para superar el ataque de un insecto, sin que tenga una pérdida significativa de la calidad y cantidad de su producción o afecte su éxito reproductivo. Está determinada entre otras cosas por la disponibilidad y fuente de meristemas residuales y procesos fisiológicos capaces de promover el crecimiento compensatorio después de la defoliación (Trumble *et al.*, 1993). Por último, la

antixenosis es el mecanismo que hace que una planta sea menos preferida que otras por un insecto para su alimentación, reproducción o protección.

Las pruebas de elección se usan para establecer si existe un mecanismo de antixenosis (o no preferencia), que influya sobre el comportamiento de los insectos. Por ejemplo, la existencia de factores de antixenosis tales como pubescencia, ceras superficiales y tamaño y ancho de hoja que afecten negativamente al comportamiento del insecto (Baker *et al.*, 1981, Reinert, 1982, Johnson-Cicalese *et al.*, 1989, Johnson - Cicalese *et al.*, 1998).

Todo el proceso de selección y especificidad de la planta hospedante depende de las respuestas de comportamiento de los insectos a estas defensas de las plantas y, por tanto, las diferencias de comportamiento son probablemente un factor central en la evolución de la especificidad de la planta hospedante (Bernays y Chapman, 1994).

La coevolución (selección natural recíproca entre dos o más grupos de organismos, estrechamente relacionados ecológicamente pero sin que exista intercambio de material genético) es un tema relevante en los estudios de las relaciones entre insectos y plantas. En general se acepta que la gran diversidad de metabolitos secundarios de las plantas pueden haber evolucionado en respuesta al ataque de los herbívoros, particularmente los insectos, y que muchos insectos evolucionan en respuesta a los cambios en sus plantas hospederas. El modelo de Ehrlich y Raven (1964) constituye la exposición más común de la coevolución entre plantas e insectos:

1. Muchas especies de plantas producen sustancias fitoquímicas que son ligeramente nocivas para los insectos y que pueden tener una función autoecológica o fisiológica en las plantas.
2. Algunas especies de insectos se alimentan de estas plantas, reduciendo la eficacia biológica de las mismas.

3. Una mutación en la planta causa la producción de una nueva sustancia más nociva, que puede aparecer independientemente en distintos grupos de plantas relacionadas.
4. La alimentación del insecto se reduce a causa de esta nueva sustancia, por lo que las plantas que incrementen las sustancias nocivas podrían ser seleccionadas por la menor presión de herbivoría.
5. A su vez, se produce una radiación evolutiva de las plantas.
6. Los insectos evolucionan tolerancia, o incluso atracción y utilización del nuevo compuesto, de manera que un insecto puede especializarse en comer solo plantas con el nuevo compuesto.
7. El ciclo puede repetirse, resultando en la producción de más sustancias fitoquímicas y una posterior especialización de los insectos.

En relación al insecto, los aspectos morfológicos y fisiológicos son importantes, especialmente los relacionados con la presencia de los quimiorreceptores adecuados, y los aspectos bioquímicos vinculados con la capacidad de excretar, de biodegradar y de secuestrar metabolitos tóxicos destinados a evitar el ataque de depredadores (Dethier, 1980; Metcalf y Metcalf, 1992).

En relación al cultivo y como consecuencia de los 400 millones de años de coevolución entre herbívoros y plantas, en ellas pudo haber ocurrido un proceso de selección durante el cual se han desarrollado defensas químicas que funcionan como barreras contra los herbívoros, dificultando el consumo de las plantas por los insectos (Futuyma y Keese, 1992; Thompson, 1994). Los autores mencionados sugieren que esto configuraría la defensa pasiva de las plantas contra los herbívoros, por tanto las que poseen propiedades que las tornan menos adecuadas para el consumo, están en ventaja con respecto a las que no tienen estas propiedades (Rhoades, 1985).

Frazier y Chyb (1995) señalaron un mecanismo de coevolución a través de mutaciones al azar, por las cuales el genoma vegetal condujo, en algún momento del proceso evolutivo, a la síntesis de sustancias semioquímicas que impedían al insecto alimentarse de la planta. Las plantas que de ese modo se transformaron en resistentes al ataque de las plagas, se multiplicaron tornándose más abundantes. De acuerdo con este mecanismo de coevolución, en una etapa posterior, bajo la fuerte presión selectiva ejercida por las sustancias semioquímicas vegetales, los insectos desarrollaron algún mecanismo de detoxificación, o bien, comenzaron a utilizarlos en su propio beneficio, transformándolos en claves para reconocer al hospedante, o secuestrándolos con fines defensivos, tal como hace la mariposa monarca, *Danaus plexippus* (Fabricius, 1793). Este proceso trajo aparejado que ciertos herbívoros polívoros o generalistas (que se alimentan de especies de distintas familias) se adaptaran convirtiéndose en especialistas, en unos casos oligófagos (cuando se alimentan de especies de una misma familia) y en otros monófagos (cuando se alimentan de especies de un mismo género). Esto es lo que ocurre con los fitoquímicos presentes en especies de la familia Brassicaceae, se caracteriza por la presencia de un grupo de compuestos denominados glucosinolatos que se encuentran almacenados en las vacuolas celulares (Hopkins *et al.*, 2009). Cuando los tejidos sufren algún daño, por ejemplo debido a la herbivoría, estos metabolitos son liberados quedando en contacto con enzimas específicas (mirosinasas) que los convierten en productos que actúan como repelentes, antialimentarios y tóxicos para la mayoría de los organismos fitófagos (Rask *et al.*, 2000; Hopkins *et al.*, 2009). Sin embargo, para cierto grupo de herbívoros que se ha especializado en el consumo de Brassicaceae, estos productos constituyen atrayentes de oviposición y alimentación (Fahey *et al.*, 2001; Hopkins *et al.*, 2009) como es el caso de *Microtheca ochroloma* Ståhl. (Coleoptera, Chrysomelidae) (Riquelme *et al.*, 2014).

Por lo tanto, el rol de los fitoquímicos en la interacción insecto-planta es variado y puede involucrar respuestas favorables o desfavorables para la planta, todas ellas

interacciones de alta especificidad que se han desarrollado a través del proceso de coevolución (Bernays, 2001)

En la literatura se ha observado una tendencia a centrarse principalmente en los aspectos taxonómicos de la selección del hospedante, mientras que hay menos estudios sobre los factores utilizados por los insectos fitófagos en la selección de la calidad de las plantas dentro de su gama de hospedantes (Bernays y Chapman, 1994)

Los aceites esenciales de hojas de eucalipto se definen como compuestos volátiles al vapor con un peso molecular inferior a 500 Da, una mezcla de hidrocarburos, terpenos y sesquiterpenos, y compuestos oxigenados como alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos, cetonas, lactonas y fenoles (Brophy y Southwell, 2002). Las glándulas de aceites se encuentran dentro de las hojas de eucalipto, muy por debajo de la cutícula epidérmica y otras células que forman las capas superficiales del follaje de la hoja (Denny, 2002).

Las defensas químicas con biosíntesis, acumulación y perfiles de terpenoides juegan un papel importante en la ecología química como compuestos repelentes o disuasivos (Edwards *et al.*, 1993) y como estimulantes de alimentación (Delrio *et al.*, 1983). Martins y Zarbin (2013) compararon los compuestos orgánicos volátiles liberados por plantas de *Eucalyptus benthamii* que afectaron a *T. peregrinus*, y estudiaron la preferencia de hembras vírgenes y fecundadas a estos compuestos. Se compararon diferentes perfiles de terpeno que liberaron VOC (compuestos orgánicos volátiles) de plantas dañadas o plantas con daños mecánicos. Las hembras *T. peregrinus* fecundadas preferían las plantas no dañadas a las plantas dañadas por herbívoros, mientras que las hembras vírgenes no mostraban ninguna preferencia entre las plantas dañadas o las no dañadas

Este estudio examina las diferencias en los perfiles de aceites esenciales entre seis especies de *Eucalyptus* y la relación entre la preferencia de alimentación de *T.*

*peregrinus* y los componentes de aceites esenciales individuales encontrados en las especies de *Eucalyptus* probadas.

El objetivo fue: determinar y analizar la preferencia de *T. peregrinus* hacia seis especies de *Eucalyptus* y su relación con la composición química de los aceites esenciales.

## **Materiales y Métodos**

### **a) Preferencia por tipo de hoja: hoja joven versus hoja adulta**

Se realizaron ensayos sobre la respuesta alimentaria de *Thaumastocoris peregrinus* en laboratorio sobre hojas jóvenes y adultas de distintas especies de eucalipto. Las especies analizadas fueron *Eucalyptus viminalis*, *E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. dunnii*, *E. grandis* y *E. tereticornis*. Las hojas jóvenes y adultas utilizadas en los experimentos se extrajeron del *arboretum* ubicado en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján. Se utilizaron individuos adultos de *T. peregrinus* criados en laboratorio sobre *E. maidenii*.

Todos los ensayos se llevaron a cabo en condiciones controladas de luz, temperatura y humedad ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 60 % HR y 12 L: 12 O). Se utilizó una cámara de cría (JEIO Tech GC-300/1000).

En recipientes de vidrio de un litro, se colocaron de manera equidistante dos frascos conteniendo hojas jóvenes y adultas de las especies de eucalipto a contrastar, las mismas fueron cosechadas el mismo día del ensayo, del *arboretum* de la UNLu.

Se colocó un insecto por recipiente realizándose 20 repeticiones. Al cabo de 48 horas se determinó la selección por parte del insecto observando la presencia o ausencia de deyecciones en las hojas. Las deyecciones se utilizaron como evidencia de alimentación efectiva (Santadino *et al.*, 2008).

**b) Preferencia de alimentación de *T. peregrinus* sobre diferentes especies de *Eucalyptus* en el laboratorio.**

La preferencia alimentaria de adultos de *Thaumastocoris peregrinus* por distintas especies de *Eucalyptus* se evaluó en el laboratorio mediante la realización de experimentos de elección bajo un diseño de comparaciones de a pares (David, 1988; de Vries, 1998), en el que a cada individuo se le ofreció un par de hojas de cada una de las seis especies de *Eucalyptus* ensayadas en cada una de las quince combinaciones posibles. En cada caso el número de réplicas fue 20. Este diseño fue elegido por sobre los experimentos de cafetería (Gross *et al.*, 1991, Crist y MacMahon, 1992), porque cuando más de dos ítems son ofrecidos, es posible que los individuos elijan sin evaluar el conjunto completo. (Pirk y Lopez de Casenave, 2011). Las especies de *Eucalyptus* evaluadas fueron: *E. viminalis*, *E. dunnii*, *E. tereticornis*, *E. maidenii*, *E. globulus* y *E. grandis* por ser las de mayor superficie de cultivo en Argentina.

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Zoología Agrícola de la Universidad Nacional de Luján, en una cámara de crecimiento JEIO Tech GC-300/1000 bajo las siguientes condiciones:  $24 \pm 2$  °C;  $60 \pm 10\%$  HR; Fotoperíodo 12L:12O.

Los insectos utilizados para el ensayo fueron colectados de un monte de *Eucalyptus camaldulensis* en el campo experimental de la Universidad y criados sobre esta misma especie en jaulas dispuestas a tal fin hasta alcanzar el estado adulto con el que se realizaron los ensayos.

El material vegetal utilizado para los bioensayos fue colectado el mismo día y se colocó en frascos de 5 cm<sup>3</sup> a razón de una hoja por frasco. Las arenas consistieron en dos frascos de vidrio de 1 litro, cada uno con una hoja adulta de las especies ensayadas.

Los ítems se ubicaron a la misma distancia entre sí y, alternando al azar su ubicación a izquierda o derecha del sitio de colocación inicial del insecto, respecto de la dirección de la fuente de luz.



Previo ayuno de dos horas se colocó un adulto por contenedor en una posición equidistante de los dos frascos. Al cabo de 48 horas se determinó la selección por parte del insecto observando la presencia y contando el número de deyecciones en las hojas de cada una de las especies comparadas. Las deyecciones se utilizaron como evidencia de alimentación efectiva (Santadino *et al.*, 2008)

### **c) Composición química de los aceites esenciales**

Material vegetal y extracción de aceites esenciales.

El material vegetal, hojas frescas de las seis especies de eucalipto utilizadas en los bioensayos fue recolectado durante agosto de 2014. Los aceites esenciales se obtuvieron mediante hidrodestilación utilizando un dispositivo de tipo Clevenger modificado. El procedimiento de extracción se realizó durante 70 minutos, tiempo al cual el rendimiento permaneció constante (Lucia *et al.*, 2008). Después de la extracción, los aceites esenciales se separaron del agua, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se mantuvieron a -4 ° C hasta su uso.

#### ***Estándares químicos y análisis GC-MS de aceites esenciales***

Todos los estándares químicos se adquirieron en Sigma-Aldrich® Argentina:  $\alpha$ -pineno (98%), (*R*)-(+)-canfeno (80%), (*S*)-(-)- $\beta$ -pineno (98%),  $\alpha$ -terpineno (85%), *p*-cimeno (99%), (*S*)-(-)-limoneno (96%), 1,8-cineol (99%),  $\gamma$ -terpineno (97%), linalol (97%), (*S*)-(-)-borneol (90%), (*S*)-(+)-4-terpineol (96%), ( $\pm$ ) - $\alpha$ -terpineol (99%), óxido de cariofileno (99%).

Los aceites esenciales se analizaron en un cromatógrafo de gases Shimadzu GC-17A conectado a un espectrómetro de masas cuadrupolo Shimadzu (GCMS-QP5050A) y equipado con dos columnas DB-WAX iguales (J & W Scientific, Agilent Technologies, 30 m x 0,32 mm i.d. x 0,25  $\mu$ m de espesor de película) conectado en serie (Conector HP 5041-2174). Las muestras de los aceites esenciales se diluyeron en hexano (0,5 mg / ml)

y se inyectaron 0,5 µl utilizando una relación de separación de 1:35. La rampa de temperatura comenzó a 50 °C (10 minutos de tiempo de espera), luego aumentó a 68 °C (1 °C / min) y finalmente hasta 230 °C (3 °C / min) con un tiempo de espera final de 3 minutos. La presión de entrada de la columna se estableció a 61,6 kPa (velocidad lineal de 31,4 cm / s), la columna de flujo fue de 1,5 ml / min. Inyector y detector, se fijaron a 240°C y 245°C, respectivamente.

Los espectros de masas se registraron entre 40 y 350 amu y la energía de ionización de 70 eV. La cuantificación se realizó usando áreas de pico relativas normalizadas obtenidas de los cromatogramas de GC. Los componentes individuales fueron identificados por diferentes métodos: (a) los espectros de masas obtenidos de cada compuesto se compararon con los datos de la base de datos (Wiley mass spectral database ver.7, base de datos NIST), (b) los tiempos de retención de cada compuesto con los de las normas químicas, y (c) los Índices de retención lineal obtenidos por co-inyección con una serie homóloga de *n*-alcanos (C9-C17) comparados con datos bibliográficos.

#### **d) Análisis estadísticos**

Las diferencias entre las frecuencias de consumo, tanto para cada variable individualmente como para evaluar si un ítem fue significativamente más aceptado frente a cualquier otro, se estudiaron mediante el test de bondad de ajuste  $\chi^2$  ( $p < 0,05$ ) (Zar, 2010).

Para clasificar las especies de *Eucalyptus* de acuerdo a las preferencias de estos insectos, los datos se analizaron en matrices de comparaciones de a pares, este tipo de análisis ha sido ampliamente utilizado y mejorado por los etólogos para el estudio de las relaciones de dominación de un grupo social de los individuos (Appleby, 1983; Boyd y

Silk, 1983; de Vries 1995, 1998, de Vries *et al.*, 2006). Tres pasos posteriores se llevaron a cabo:

- 1) Se construyó una matriz de comparaciones pareadas
- 2) se calculó un índice de linealidad y su significación estadística para poner a prueba si las preferencias de las distintas especies mostraban una jerarquía lineal y
- 3) se calculó un índice cardinal para asignar un valor de preferencia para cada tipo de Eucalipto (Índice de David).

Las matrices de comparaciones de a pares fueron por lo tanto de 6 x 6, representando cada celda  $ij$ , el número de veces que la especie  $i$  fue preferida sobre la especie  $j$ .

Antes de clasificar de acuerdo a las preferencias de la chinches, es necesario verificar que las preferencias son jerárquicas (Boyd y Silk, 1983). Cuando todos los elementos en un diseño de comparaciones de a pares se pueden organizar en un estricto orden jerárquico, la jerarquía se dice que es lineal. Una jerarquía perfectamente lineal requiere que todas las relaciones posibles entre todos sus elementos sea transitiva (A es preferida sobre B y B es preferida sobre C, por lo tanto A debe ser preferida sobre C).

Para probar la linealidad y su nivel de significación se siguió la metodología propuesta por De Vries (1995): para un caso en que se admiten empates y no existen relaciones desconocidas, utilizando el índice de linealidad de Landau "h" (Landau, 1951). Este índice varía entre 0 y 1, donde uno indica una jerarquía de preferencia completamente lineal y 0 indica que todas las especies son igualmente preferidas. El nivel de significación del índice calculado se consultó en Appleby (1983).

Para realizar la estimación de linealidad se implementó el método propuesto por De Vries (1995) en el programa R (R Development Core Team, 2010), mientras que el

cálculo del "Índice de David" se realizó utilizando el paquete 'steepness' (Leiva y de Vries, 2011).

Las preferencias detectadas se probaron luego contra la composición química del aceite esencial con análisis de regresión y GLM. Estos se realizaron utilizando el software Statistical Graphics SGWIN® (Statgraphics Plus 4.0, Statistical Graphics Corporation, 1994-1999, Herndon, VA, EE.UU.). El Modelo Lineal Generalizado (GLM), utilizando la distribución 'binomial' para modelar la variable de respuesta (preferencia de alimentación (%)) y la función de enlace 'logit', se utilizó para analizar las diferencias entre las especies con el mayor o el menor contenido de 1,8-cineol. El nivel de significancia fue a  $P < 0.05$ . Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Infostat (di Rienzo *et al.*, 2014).

Por cada par de especies de eucalipto evaluado, se analizó que porcentaje de insectos elegían, o bien la especie con mayor porcentaje, de 1,8-cineol, o bien, con el menor porcentaje de dicho compuesto.

Los pares probados, *E. maidenni* vs *E. globulus* y *E. grandis* vs *E. tereticornis*, fueron eliminados porque sus contenidos de 1,8-cineol fueron similares. Los valores de concentración relativa de 1,8-cineol (%) en los aceites esenciales se transformaron y se consideraron significativamente diferentes, si los límites de confianza del 95% no se superpusieron (GraphPad InStat® Vers. 3.01, Copyright 1992-1998, San Diego, California, EE. UU.).

## RESULTADOS

### a) Preferencia hoja joven versus hoja adulta

*Thaumastocoris peregrinus* prefirió de manera muy altamente significativa la hoja adulta sobre la hoja joven en todas las especies de eucalipto testeadas (Tabla 3.1).

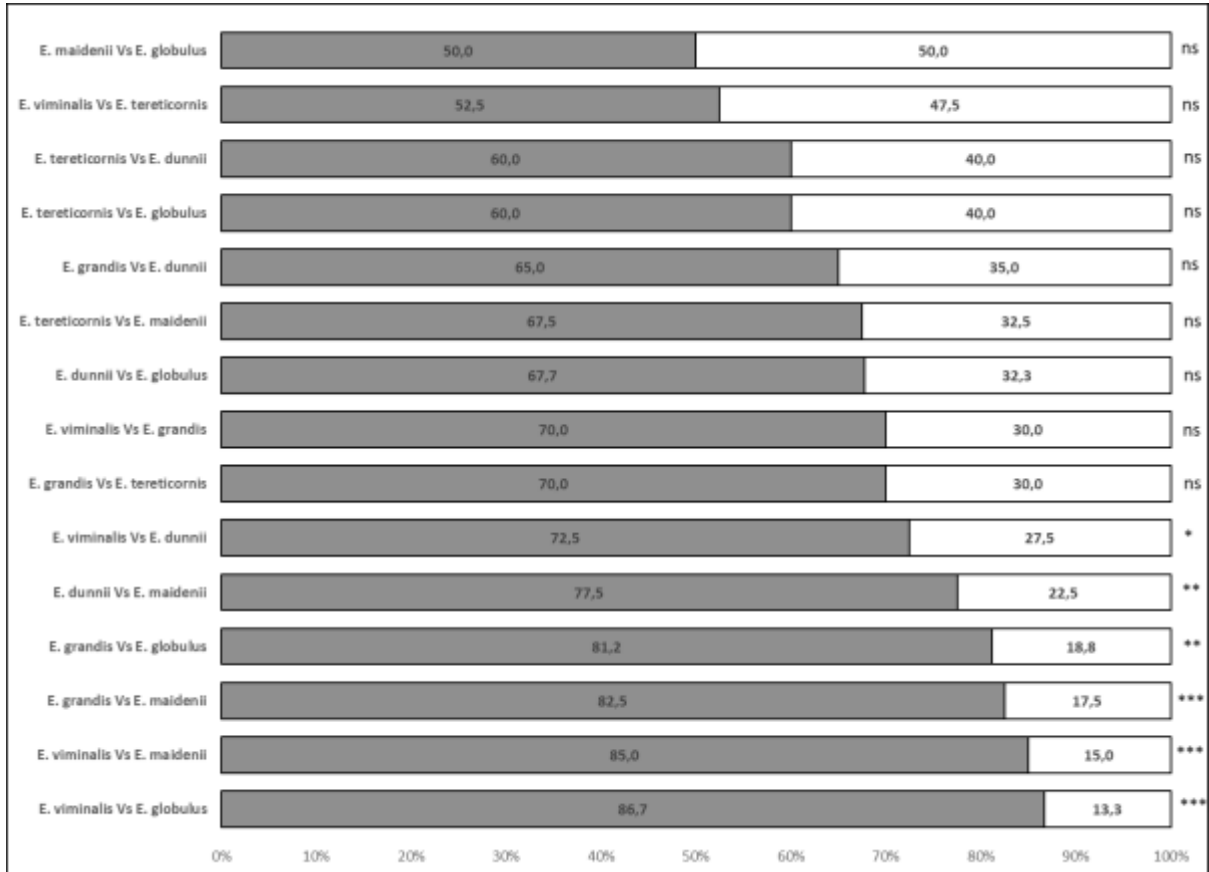
**Tabla 3.1:** Resultados del ensayo de preferencia de *Thaumastocoris peregrinus* entre hoja adulta y hoja joven, de las distintas especies de *Eucalyptus*. Test de chi cuadrado para el análisis de la respuesta alimentaria (1 gl, valor esperado para  $p = 0,05$ : 3,841, \* se rechaza la hipótesis)

Espece	Tipos de hojas	Observado	Esperado	Valor calculado
<i>E. viminalis</i>	Adulta	20	10	20,05 *
	Joven	0	10	
<i>E. globulus</i>	Adulta	20	10	20,05 *
	Joven	0	10	
<i>E. grandis</i>	Adulta	20	10	20,05 *
	Joven	0	10	
<i>E. dunnii</i>	Adulta	20	10	20,05 *
	Joven	0	10	
<i>E. camaldulensis</i>	Adulta	20	10	20,05 *
	Joven	0	10	
<i>E. tereticornis</i>	Adulta	20	10	20,05*
	Joven	0	10	

**b) Preferencia de alimentación sobre diferentes especies de *Eucalyptus* en el laboratorio.**

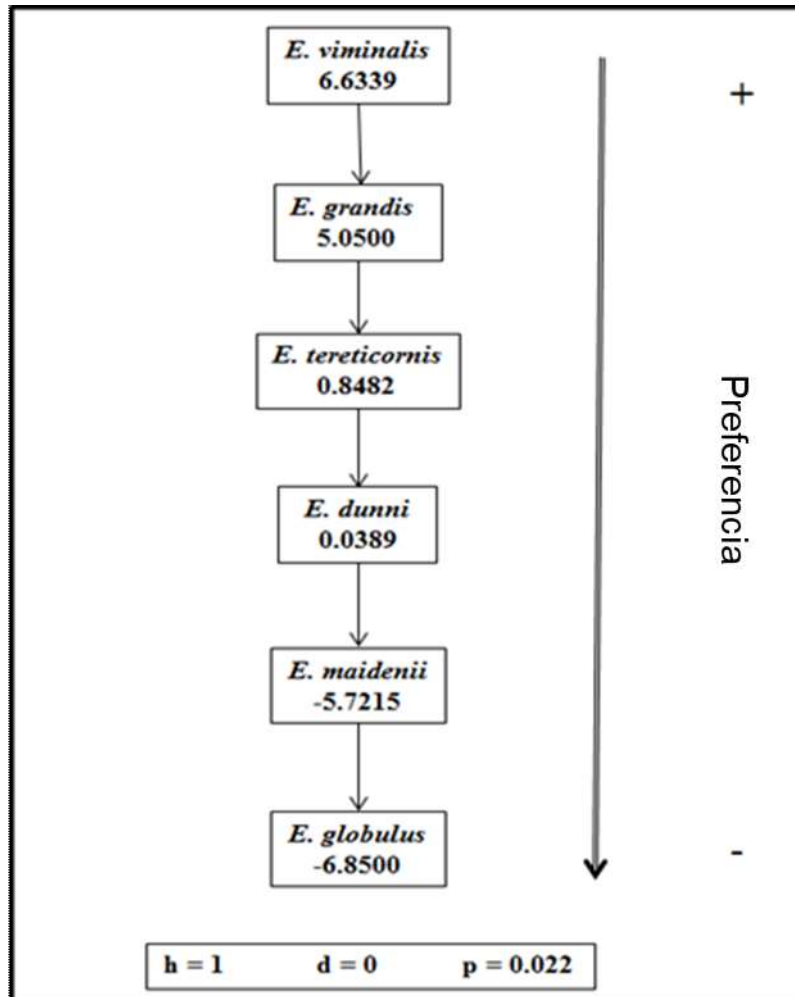
Cuando *E. viminalis* fue comparado con las otras cinco especies de *Eucalyptus*, los ensayos mostraron que *T. peregrinus* exhibió una preferencia positiva por *E. viminalis* mucho mayor que por *E. maideni* ( $p=0,0014$ ) y *E. globulus* ( $p=0,0045$ ), ligeramente mayor que por *E. dunnii* ( $p=0,0441$ ), y similar a la exhibida por *E. grandis* ( $p=0,0736$ ) y *E. tereticornis* ( $p=0,0736$ ). Cuando *E. grandis* fue comparado con las otras cuatro especies de *Eucalyptus* los ensayos mostraron que *T. peregrinus* exhibió una preferencia positiva por *E. grandis* mucho mayor que por *E. maideni* ( $p=0,00001$ ) y *E. globulus* ( $p=0,0124$ ) y similar a la exhibida por *E. tereticornis* ( $p=0,0736$ ) y *E. dunnii* ( $p=0,179$ ). A su vez *E. dunnii* fue significativamente más preferido que *E. maideni* ( $p=0,0139$ ).

La Figura 3.1 muestra los resultados de las comparaciones pareadas, mientras que la Figura 3.2 muestra el análisis de preferencias, con las especies ordenadas por preferencia de acuerdo con el valor del Índice de David.



**Figura 3.1:** Las barras muestran el porcentaje de preferencia de *Thaumastocoris peregrinus* adultos de una especie de *Eucalyptus* sobre otra en las pruebas de comparación de a pares (N = 20). La barra negra muestra el primer nombre y la barra blanca el segundo. Los asteriscos indican niveles de significancia en las pruebas de Chi-cuadrado (ns; no significativo., \* P <0.1; \*\* P <0.05; \*\*\* P <0.01)

Los resultados del análisis muestran un índice de linealidad de Landau  $h = 1$ , y una ausencia completa de bucles ( $d = 0$ ). Estos resultados muestran que existe una jerarquía de preferencias de alimentación significativa ( $p = 0.022$ ) y estricta por *T. peregrinus* entre las seis especies de eucaliptos probadas.



**Figura 3.2:** Preferencias significativas de *T. peregrinus* adultos entre las especies de *Eucalyptus* probadas. Se muestra el valor de linealidad (h) y el Índice de David. Un valor h de 1 indica una jerarquía lineal estricta en las preferencias probadas. Un valor d de 0 indica que no hay bucles en la jerarquía lineal de preferencias.

### c) Composición química de los aceites esenciales

La composición química cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales de estas especies de Eucalypto se muestra en la Tabla 3.3. Los resultados indican que el principal componente de los aceites esenciales de *E. maidenii* y *E. globulus* fue el



monoterpeno 1,8-cineol, con valores de 88,98% y 89,96%, respectivamente. Además, los siguientes monoterpenos principales para estos aceites esenciales fueron  $\alpha$ -pineno (3,2% y 4,4%), limoneno (2,5% y 1,6%) y otros constituyentes menores, respectivamente. En el caso de los aceites esenciales de *E. dunnii* además del 1,8-cineol (60.1%), lo caracteriza la presencia de  $\alpha$ -pineno (6.5%), globulol (5.2%), *trans*-pinocarveol (5.1%),  $\alpha$ -terpinil acetato (5.7%) y otros componentes menores. En contraste, el extracto del aceite esencial de *E. grandis* fue dominado por  $\alpha$ -pineno (48.8%) y 1,8-cineol (18.1%), seguido de limoneno (2.2%), *p*-cimeno (7.9%),  $\gamma$ -terpineno (13.4%),  $\alpha$ -terpineol (13.4%) e Isobutirato de isobutilo (1.3%). El aceite esencial de *E. viminalis* presentó tres compuestos principales; 1,8-cineol (34,3%), globulol (25,1%) y  $\alpha$ -pineno (17,3%) seguido de limoneno (2,2%), *p*-cimeno (2.1%), aromadendreno (2.8%), *trans*-pinocarveol (0.9%),  $\alpha$ -terpineol (1.8%), epiglobulol (3.9%) y viridiflorol (3.9%). Por otro lado, el aceite esencial de *E. tereticornis* muestra a *p*-cimeno (30,2%),  $\alpha$ -terpinil acetato (24,5%) y 1,8-cineol (18,4%) como los principales constituyentes.

**Tabla 3.3.** Composición química (%) de los aceites esenciales de *Eucalyptus* analizados mediante cromatografía gaseosa.

Compuestos	LRI <sup>a</sup>	Método de identificación <sup>b</sup>	E.v.	E.gr.	E.d.	E.t.	E.m.	E.gl.
$\alpha$ -pineno	1017	LRI, MS, RC	17.27	48.82	6.49	2.37	3.21	4.38
$\alpha$ -tujeno	1019	LRI, MS	-	-	-	0.66	-	-
campheno	1054	LRI, MS, RC	-	0.16	-	-	-	-
Propionato de isobutilo	1075	LRI, MS	-	0.26	-	-	-	-
Isobutirato de isobutilo	1089	LRI, MS	-	1.34	-	-	-	-
$\beta$ -pineno	1102	LRI, MS, RC	-	-	0.11	0.09	0.08	0.17
sabineno	1113	LRI, MS	-	-	-	0.33	-	-
$\alpha$ -felandreno	1154	LRI, MS	-	-	-	0.12	-	-
$\beta$ -mirceneno	1157	LRI, MS	-	-	-	0.20	0.16	-
$\alpha$ -terpineno	1167	LRI, MS, RC	-	-	-	0.11	-	-
limoneno	1190	LRI, MS, RC	2.18	2.19	1.71	3.18	2.48	1.58
isobutil ácido isopentanoico ester	1194	LRI, MS	-	0.31	-	-	-	-
$\beta$ -felandreno	1198	LRI, MS	-	-	-	0.52	-	-
1,8-cineol	1205	LRI, MS, RC	34.32	18,06	60.13	18.41	88.98	89.96
trans-beta-ocimeno	1229	LRI, MS	-	0.20	-	0.70	-	0.16
$\gamma$ -terpineno	1235	LRI, MS, RC	-	13.42	0.28	1.72	0.07	-
<i>p</i> -cimeno	1259	LRI, MS, RC	2.10	7.96	1.56	30.16	0.07	-
$\alpha$ -terpinoleno	1272	LRI, MS	-	0.24	-	-	-	-
Isovalerato de isoamil	1294	LRI, MS	-	0.20	0.10	-	-	-
$\alpha$ -tujona	1432	LRI, MS	-	-	-	0.19	-	-
linalool	1553	LRI, MS, RC	-	0.37	-	0.44	0.03	-
Pinocarvona	1567	LRI, MS	-	-	2.15	-	-	0.56

fenchol	1588	LRI, MS		0.25	0.20	-	-	-
<i>trans</i> -cariofileno	1593	LRI, MS		-	0.12	-	0.08	-
aromadendreno	1605	LRI, MS	2.78	-	-	-	-	-
4-Terpineol	1605	LRI, MS, RC		0.96	0.52	2.02	0.56	0.26
<i>alo</i> -aromadendreno	1647	LRI, MS		-	-	-	0.03	-
<i>trans</i> -pinocarveol	1663	LRI, MS	0.90	-	5.13	-	0.08	0.55
criptona	1675	LRI, MS		-	-	1.72	-	-
$\alpha$ -terpinil acetato	1701	LRI, MS		-	5.71	24.46	-	-
$\alpha$ -terpineol	1705	LRI, MS, RC	1.82	2.64	1.54	-	2.70	0.78
borneol	1711	LRI, MS, RC		0.66	0.24	-	-	-
felandranal	1726	LRI, MS		-	-	0.30	-	-
carvona	1742	LRI, MS		-	-	0.11	-	-
Cuminaldehido	1789	LRI, MS		-	-	2.37	-	-
<i>cis</i> -p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	1807	LRI, MS		-	0.89	-	-	0.13
<i>trans</i> -Carveol	1844	LRI, MS		-	0.25	-	-	0.06
<i>cis</i> -Carveol	1876	LRI, MS		-	0.09	-	-	-
<i>trans</i> -p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	1899	LRI, MS		-	0.64	-	-	0.10
epiglobulol	2030	LRI, MS	3.93	-	0.76	-	0.08	0.09
Globulol	2098	LRI, MS	25.10	-	5.21	0.50	0.53	0.55
Viridiflorol	2105	LRI, MS	3.98	-	0.62	-	0.11	0.08
espatulenol	2140	LRI, MS		-	-	5.06	-	-
<i>TOTAL (%)</i>			94.38	97.99	94.38	95.69	99.22	99.37

<sup>a</sup>LRI: Índice de retención lineal de cada componente en los aceites esenciales (DB-WAX column),

<sup>b</sup>MS: Espectro de masa comparado con la bibliografía, RC: Tiempo de retención comparado con los estándares químicos, LRI: Comparación con los de la bibliografía.

E.v.: *E. viminalis*; E.gr.: *E. grandis*; E.d.: *E. dunnii*; E.t.: *E. tereticornis*; E.m.: *E. maidenii*; E.gl.: *E. globulus*

#### d) Relación entre preferencias alimentarias y aceites esenciales

Se observó una correlación negativa entre el Índice de David (preferencia de alimentación) y la concentración del 1, 8 cineol ( $P < 0,01$ ), pero no se encontró correlación con los otros componentes analizados. El análisis de regresión mostró una relación estadísticamente significativa entre las preferencias alimentarias estimadas mediante el Índice de David y la concentración de 1,8-cineol, según la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de David} = 7,44 - 0,14 \times 1,8\text{-cineol (\%)}$$

$$p < 0,05; R^2 = 75,65; F = 12,43$$

Coeficiente de correlación: -0,86

No se observó una relación estadísticamente significativa entre la concentración de *p*-cimeno y la preferencia ( $p > 0,1$ ). Sin embargo, cuando *p*-cimeno se incluyó en el modelo lineal anterior, el nuevo modelo explicó 95,40% de la varianza, con un valor de F de 31,14. Las dos variables independientes mostraron una relación estadísticamente significativa con la preferencia alimentaria de *T. peregrinus* (1,8-cineol,  $p < 0,01$ ; *p*-cimeno,  $p < 0,05$ ). Por lo tanto *p*-cimeno se incluyó en el modelo, resultando en la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de David} = 12,76 - 0,21 \times 1,8\text{-cineol (\%)} - 0,27 \times p\text{-cimeno (\%)}$$

$$p < 0,01; R^2 = 95,40; F = 31,14$$

Coeficiente de correlación: -0,88

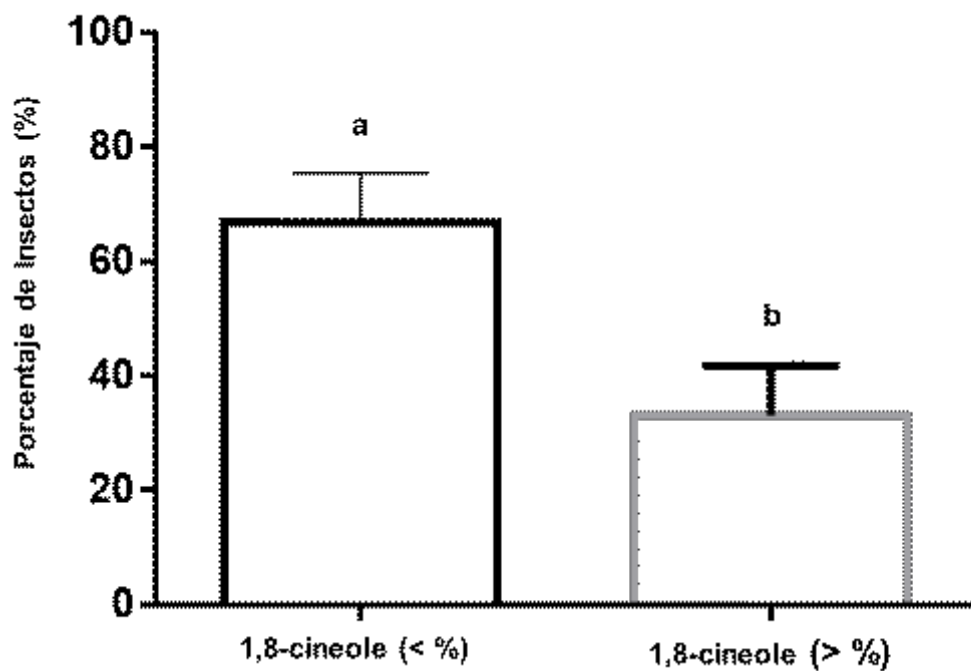
## DISCUSIÓN

Las interacciones planta-insecto son esenciales en la adquisición de mecanismos de protección de las plantas frente al ataque de insectos (Zabala, 2010) y son consecuencia, al menos en parte, de la coevolución entre plantas y herbívoros (Futuyma y Keese, 1992; Bernays, 2001). Los metabolitos secundarios tóxicos de moléculas volátiles, tales como aldehídos, alcoholes, ésteres y terpenoides inducidos por la herbivoría, actúan como defensas contra ellos (Vivanco, *et al.*, 2005). Estas defensas químicas pueden variar cualitativa y cuantitativamente entre distintas poblaciones locales de una misma especie vegetal (Villar *et al.*, 2004).

Para un herbívoro el mejor recurso alimenticio es aquel que, en condiciones no limitantes, permite el mejor desempeño del mismo, y la preferencia alimentaria usualmente es coincidente con la calidad del recurso (Jaenike, 1978; Van Nouhuys *et al.*, 2003). En este trabajo se analizó la preferencia de *T. peregrinus* respecto de hojas jóvenes y adultas de seis especies de *Eucalyptus*. Respecto de la fenología de la hoja *T. peregrinus* mostró una marcada preferencia positiva hacia las hojas adultas de todas las especies de *Eucalyptus* lo que es consistente con las observaciones realizadas a campo. En *E. globulus* existen características físicas diferentes entre hojas jóvenes y adultas (Baraño *et al.*, 2005) así como en los niveles de componentes químicos de aceites volátiles (Li *et al.*, 1994; O'Reilly- Wapstra *et al.*, 2007; McArthur *et al.*, 2010). La diferenciación estructural y la función de los metabolitos secundarios, así como la asignación diferencial de energía y materiales para la defensa química (Berenbaum, 1995), podrían explicar los resultados brindados por el ensayo de preferencia entre hoja joven y hoja adulta. Por estas razones es de esperar que en la mayoría de las especies de *Eucalyptus*, las hojas jóvenes tengan menor susceptibilidad a determinadas plagas, favoreciendo la supervivencia de los árboles jóvenes.

Respecto de las preferencias hacia hojas de diferentes especies de *Eucalyptus* la preferencia de alimentación de *T. peregrinus* fue menor en aquellas especies con alto

contenido de 1,8-cineol en sus aceites esenciales: *E. dunnii*, *E. maidenii* y *E. globulus* (Fig. 3.3).



**Figura 3.3:** Porcentaje de insectos que prefieren la especie con el 1,8-cineol más alto que el que tiene el contenido más bajo para todas las pruebas de elección de dos vías. N (total): 280 insectos.  $P < 0,0001$ ; Desviación residual: 135.3070; df: 11. 1,8-cineol (>%) representa la especie con mayor contenido de 1,8-cineol y 1,8-cineol (<%) representa la especie con menor contenido de 1,8-cineol en los aceites esenciales para todos las pruebas de elección de dos vías. Las barras marcadas con letras diferentes son significativamente diferentes

El compuesto 1,8-cineol fue un componente común confirmado de todas las muestras analizadas, pero su proporción fue diferente según las especies. Los resultados muestran que la preferencia alimentaria fue significativamente menor en las especies de Eucalipto con un alto contenido de 1,8-cineol. Estos resultados apoyan fuertemente hipótesis de la actividad repelente del 1,8-cineol. Por otra parte, las concentraciones de *p-cimeno* fueron más altas en las especies más preferidas de Eucalipto: *E. viminalis*, *E. grandis*, y *E. tereticornis*.

Los resultados presentados aquí son consistentes con las observaciones de campo respecto de la densidad y daño de insectos, siendo *E. viminalis*, *E. grandis* y *E. tereticornis* las especies preferidas (Jacob y Neser, 2005; Cuello *et al.*, 2014), mientras que las especies menos preferidas tienen menores densidades de insectos y daños (Ide *et al.*, 2011).

Es bien sabido que algunos constituyentes de aceites esenciales exhiben propiedades atrayentes de insectos. Por ejemplo, *p-cimeno* ha demostrado tener actividad atrayente en el laboratorio en hembras de mosca de olivo, *Bactrocera oleae* (Delrio *et al.*, 1983) y en la larva de la mosca de la fruta del arándano, *Rhagoletis mendax* (Lugemwa *et al.*, 1989). Además, Coutinho-Abreu *et al.* (2014) informó que el psílido asiático de los cítricos (ACP), *Diaphorina citri*, es atraído por plantas cítricas ricas en *p-cimeno* donde se alimenta de la savia y la usa como sitio para el apareamiento, la oviposición y el desarrollo de las ninfas. En otro trabajo, Hernández-Sánchez *et al.* (2001) probaron el atractivo de los terpenos volátiles a partir del mango (*Mangifera indica*) a *Ceratitis capitata* en jaulas de laboratorio. Este monoterpeneo también se describió como un compuesto fagoestimulante de la mosca minadora de hojas de castaño de indias, *Cameraria ohridella* (Kordan *et al.*, 2013).

Una composición química similar de los aceites esenciales del eucalipto también fue encontrada y publicada por otros autores. En el caso de *E. maidenii*, los resultados son similares a los obtenidos por Lucia *et al.* (2008), en cuanto a que contenía 1,8-cineol

(77,91%),  $\alpha$ -pineno (5,84%),  $\alpha$ -terpineol (6,04%),  $\gamma$ -terpineno (4,82%) y p-cimeno (2,31%). En el mismo trabajo, determinaron que los principales compuestos del aceite esencial de *E. globulus* fueron 1,8-cineol (76,66%),  $\alpha$ -pineno (11,09%) y  $\alpha$ -terpineol (1,45%). Los resultados de otros trabajos publicados muestran la composición de los aceites esenciales de *E. dunnii* similar al presentado aquí (Lucia *et al.*, 2008; Mizrahi *et al.*, 1997; Toloza *et al.*, 2010). Para *E. grandis*, Dagne *et al.* (2000) encontraron a  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno como componentes principales, aunque Mora Martínez *et al.* (2002) y Lucia *et al.* (2007) encontraron principalmente  $\alpha$ -pineno y 1,8 cineol, mientras que Estanislau *et al.* (2001) determinaron como principales aceites a  $\gamma$ -terpineno, Ocimeno, y  $\beta$ -pineno.

Respecto a *E. viminalis* resultados de Müller da Silva *et al.* (2006) muestran una alta concentración de 1,8-cineol (83,8-85,6%). Estos resultados son similares a los publicados por Lucia *et al.* (2008). La presencia de p-cimeno como componente principal del *E. tereticornis* fue publicada por Bossou *et al.* (2013) y Alitonou *et al.* (2004).

Por otra parte, el 1,8-cineol ha demostrado ser un repelente natural y hay varios informes que muestran su bioactividad. Mediante el uso de experimentos de no elección, experimentos de elección / no elección y experimentos manipulativos, el consumo de hojas por escarabajos de Navidad (*Anoplognathus pallidicollis*) se correlacionó negativamente con las concentraciones de 1,8-cineol y los aumentos artificiales en la concentración de 1,8-cineol redujeron aún más el consumo de hojas (Matsuki *et al.*, 2011). El mismo efecto fue observado por Edwards *et al.* (1993), quien informó que los árboles de *Eucalipus* con un alto contenido de 1,8 cineol mostraron menos susceptibilidad a la herbivoría por los escarabajos de Navidad. Además, existen varios informes que muestran la bioactividad del 1,8-cineol frente a un amplio espectro de plagas de insectos. Por ejemplo, Klocke *et al.* (1987) encontraron que el 1,8-cineol, el principal monoterpenoide presente en el aceite volátil de *Hemizonia fitchii* (Asteraceae), fue moderadamente eficaz como repelente alimenticio y altamente efectivo como repelente oviposicional contra los adultos de *Aedes aegypti*, el mosquito de la fiebre amarilla.



Además, 1,8 cineol provocó una fuerte acción repelente contra *Sitophilus granarius* y *Sitophilus zeamais* pero fue moderadamente repelente a *Tribolium castaneum* y *Prostephanus truncatus*, bien documentado por Obeng-Ofori *et al.* (1997). Por otro lado, Liu *et al.* (2011) observaron una fuerte repelencia para el 1,8-cineol (como compuesto principal de aceites esenciales de *Cyperus rotundus* y *Eucalyptus robusta*) en la cucaracha alemana *Blattella germanica* L. Al evaluar el aceite esencial de *Tanacetum vulgare*, Pålsson *et al.* (2008) encontraron un fuerte efecto de repelencia sobre *Ixodes ricinus*, la garrapata de ricino.

La toxicidad de aspersiones de aceites esenciales de Eucalipto contra diferentes insectos se atribuyó a 1,8-cineol: *Musca domestica* Linnaeus (Tarelli *et al.*, 2009), *Rhodnius prolixus* Stahl (Sfara *et al.*, 2009), *Pediculus humanus capitis* De Geer (Tolozá *et al.*, 2008), *Haematobia irritans* Linnaeus (Juan *et al.*, 2011), *Aedes aegypti* Linnaeus (Lucía *et al.*, 2008, 2009, 2012) y *Blattella germanica* Linnaeus (Alzogaray *et al.*, 2011).

En un estudio sobre *Glycaspis brimblecombei* Moore, Lucía *et al.* (2016) también obtuvieron resultados similares. Evaluaron la correlación entre el nivel de infestación de *G. brimblecombei* en trece especies de Eucalipto y su relación con la composición química de los aceites esenciales. Como resultado, seis de las especies no infestadas exhibieron contenidos muy altos del terpeno 1,8-cineol, que oscilaba entre 49 y 91% del total de aceites. Sus resultados sugieren que la abundancia de este insecto fue significativamente menor en aquellas especies de Eucalipto con alto contenido de 1,8-cineol, de acuerdo con las presentadas aquí. En general, los resultados presentados en esta tesis, muestran la importancia de seleccionar especies de Eucalipto en áreas infestadas por *Thaumastocoris peregrinus*.

## **CAPÍTULO IV**

**Preferencia de oviposición y desempeño de  
*Thaumastocoris peregrinus* sobre distintas  
especies de *Eucalyptus***

## Introducción

Un principio en la teoría de la Historia de vida (*Life history theory*) es que los rasgos del ciclo vital y demográficos evolucionan en respuesta a factores ecológicos, si bien el proceso está limitado por la variabilidad genética y la historia evolutiva (Stearns, 1992). Respecto de insectos herbívoros, desde hace tiempo se reconoce que las plantas difieren en su calidad como recurso alimenticio, aspecto de particular importancia para las especies de insectos cuyas etapas inmaduras son relativamente inmóviles (Ehrlich y Raven, 1964). Por lo tanto, en ausencia de enemigos naturales relevantes (*Enemy-free hypothesis*) (Price *et al.*, 1980), la selección natural debería favorecer a las hembras con la capacidad de discriminar entre las plantas de diferente calidad alimenticia para el desarrollo de su progenie (*Preference-performance hypothesis*) (Jaenike, 1978). De ellas se deriva la predicción que establece que, sin considerar los efectos de los competidores ni los enemigos naturales, la descendencia se desempeñará mejor en las plantas elegidas por las madres.

Para los insectos herbívoros invasores, el uso de hospedadores en áreas nuevas puede ser diferente de los patrones de uso en su área nativa. Esto puede deberse a que frecuentemente encuentran nuevas plantas hospedadoras en las zonas invadidas, o bien a que no todos los hospedadores presentes en su hábitat nativo se encuentran disponibles en la nueva área, o a ambas. Como todos los eventos de colonización, el proceso de establecimiento en el nuevo hábitat es iniciado por una hembra que acepta o no una planta como sustrato de oviposición (Renwick y Chew, 1994; Stefanescu *et al.*, 2006), y por lo dicho antes, la planta elegida afectará la supervivencia de la descendencia (Van Nouhuys *et al.*, 2003).

Las plantas en general y los árboles en particular, poseen una variedad de mecanismos de resistencia, desde muy generalistas, es decir, contra una gran diversidad de potenciales atacantes, a muy particulares enfocados sobre una reducida variedad de

atacantes o una sola especie. Painter (1951) estudió los mecanismos de defensa de las plantas frente a los insectos y definió tres categorías básicas que caracterizan la resistencia de las plantas: antixenosis, tolerancia y antibiosis.

La antixenosis (o no preferencia) afecta en forma adversa el comportamiento del insecto no permitiéndole servirse ciertos genotipos de sus plantas hospedantes evitando así ser utilizada para oviposición, alimento o refugio. La tolerancia es la capacidad que tiene la planta de resistir o recuperarse del daño causado por los herbívoros. En tanto la antibiosis se presenta cuando la planta ejerce un efecto adverso directo sobre el herbívoro que se alimenta de ella, y que se manifiesta de varias maneras: (1) muerte de insectos generalmente en estadios tempranos; (2) alargamiento de la duración del ciclo de vida del insecto; (3) conversión anormal del alimento; (4) fallas en el proceso de pupación o de emergencia de adultos; (5) emergencia de adultos muy pequeños o malformados; y (6) fecundidad y fertilidad reducidas. Cuando la antibiosis es muy elevada causa una disminución de la tasa de incremento poblacional del insecto, por lo cual la población local puede llegar a desaparecer. Por su efecto, la antibiosis es, sin duda, el más importante de los mecanismos de resistencia a insectos.

Una misma planta puede portar más de un mecanismo de resistencia y la combinación de distintas categorías provee de mayor resistencia a la planta respecto de otras plantas que presentan estos mecanismos en forma individual (Smith, 1989).

Las defensas químicas, que actúan repeliendo a la plaga o intoxicándola, son el principal ejemplo de mecanismos que generan antibiosis. Estas defensas están representadas principalmente por compuestos producidos por el denominado metabolismo secundario no siendo esenciales para el normal funcionamiento fisiológico de las plantas (Vivanco *et al.*, 2005). Entre las sustancias que actúan como defensa química, los árboles presentan compuestos carbonados de espectro más generalista, como por ejemplo terpenos y polifenoles, cuyos efectos dependen de su concentración por lo que se los considera defensas cuantitativas. Los eucaliptos cuentan con glándulas

secretoras de terpenoides.

El análisis de las relaciones entre los insectos fitófagos y sus posibles hospederos involucra conocer, además de los mecanismos de atracción o repelencia, cómo la calidad nutricional de la planta afecta el desempeño del insecto. Este desempeño hace referencia al éxito reproductivo, afectando diferentes aspectos relacionados con su fertilidad y fecundidad, tales como el tamaño y calidad de huevos, el tamaño corporal y longevidad del adulto, peso pupal, tiempo de desarrollo y supervivencia preimaginal (Awmack y Leather, 2002; Hasan y Ansari, 2011). La calidad nutricional de la planta, en tanto, hace referencia al modo en que ésta será incorporada en la dieta del insecto y se evalúa a partir de la magnitud de alimento consumido, digerido, asimilado, excretado, metabolizado y convertido en biomasa (Scriber y Slansky, 1981). Entre los componentes nutricionales, suelen considerarse el contenido de nitrógeno, la relación carbono/nitrógeno y la presencia de algunos elementos traza como el cobalto o el selenio y metabolitos secundarios (Awmack y Leather, 2002; Hasan y Ansari, 2011).

Respecto del desempeño, la supervivencia preimaginal del herbívoro es relevante y se evalúa registrando los individuos que mueren según la edad y/o estado de desarrollo. En términos generales se consideran tres tipos de distribuciones de supervivencia que corresponden a otras tantas estrategias evolutivas; tipo I: son poblaciones en las que la mortalidad se concentra en las edades avanzadas; tipo II: la tasa de mortalidad es constante, independientemente de la edad de los individuos tipo III: la mortalidad se concentra en las primeras etapas de desarrollo (Deevey, 1947; Rabinovich, 1980; Begon *et al.*, 2006).

En este contexto, los resultados obtenidos en esta tesis y desarrollados en capítulos anteriores referidos a la selección de la especie hospedadora, sitio de alimentación y aceites esenciales, se consideró imprescindible el estudio de desempeño de *T. peregrinus* sobre distintas especies de Eucalipto.

### **Hipótesis:**

*Thaumastocoris peregrinus* prefiere oviponer sobre aquellas especies de *Eucalyptus* que maximizan su desempeño.

La preferencia de oviposición está correlacionada además con la preferencia de alimentación de los adultos.

### **OBJETIVOS**

- Determinar la preferencia de oviposición de *T. peregrinus* sobre distintas especies de eucaliptus.
- Determinar el desempeño de *T. peregrinus* sobre las mismas especies de eucaliptus evaluadas en el punto anterior.
- Evaluar la correlación entre la preferencia de oviposición, la preferencia de alimentación de los adultos y el subsecuente desempeño sobre estas mismas especies de *Eucalyptus* spp.

## MATERIALES Y MÉTODOS:

### a) Preferencia de oviposición

La preferencia de oviposición de *T. peregrinus* sobre distintas especies de *Eucalyptus* se evaluó en laboratorio mediante la realización de experimentos de elección bajo un diseño de comparaciones de a pares (David, 1988; de Vries, 1998). A cada grupo de individuos, una hembra y dos machos vírgenes (réplica) (N = 20), se le ofreció un par de hojas de cada una de las seis especies de *Eucalyptus* ensayadas en cada una de las quince combinaciones posibles. Las especies de *Eucalyptus* evaluadas fueron: *E. viminalis*, *E. dunni*, *E. tereticornis*, *E. maidenii*, *E. globulus* y *E. grandis*.

Los ensayos se realizaron en el laboratorio de Zoología agrícola de la Universidad Nacional de Luján (UNLu), Argentina. Se utilizó una cámara de crecimiento JEIO Tech GC-300/1000 a una temperatura de  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,  $60 \pm 2\%$  de HR y un fotoperíodo de 12L: 12D (Fig. 4.1)



**Figura 4.1:** Cámara utilizada para los estudios de desempeño.

Los insectos utilizados para los ensayos fueron colectados de *E. camaldulensis*, especie no utilizada en los ensayos, del campo experimental de la UNLu, y criados en el laboratorio en la misma especie hasta la emergencia del adulto. Las arenas experimentales consistieron en frascos de 1 l con dos contenedores, cada uno de ellos con material vegetal de una sola especie de eucalipto.

En cada prueba, los ítems se colocaron a la misma distancia entre sí respecto del sitio de colocación de los insectos, y la asignación de la posición fue al azar, a la izquierda o derecha del sitio respecto de la posición en la cámara. Se colocaron tres individuos por frasco entre los dos recipientes pequeños. Después de una semana de iniciado el ensayo, se determinó la selección de insectos contando la presencia y el número de huevos en las hojas de cada especie ensayada.

## **b) Desempeño**

Para investigar posibles diferencias en el desempeño de *T. peregrinus* de acuerdo a la especie de eucalipto de la cual se alimente, se recolectaron adultos de *T. peregrinus* del arboretum del campo experimental de la Unlu según se describió mas arriba. Se los colocó en jaulas de plástico para su apareamiento y durante la cría fueron alimentados con hojas de *E. camaldulensis*, especie no incluida en los ensayos. De estas jaulas de cría se recolectaron los huevos, que fueron incubados dentro de cajas de Petri con papel tisú y hojas frescas de eucalipto, en una cámara de crecimiento JEIO Tech GC-300/1000 bajo las mismas condiciones que el ensayo anterior:  $24\pm 0,5$  °C;  $60\pm 10\%$  HR, 12 O. 12L, siguiendo la metodología de Noack y Rose (2007).

Una vez emergidas las ninfas de primer estadio fueron separadas bajo lupa estereoscópica en grupos de 10 individuos, debido a su condición gregaria, y colocadas con pincel sobre hojas frescas de cada especie de Eucalipto. El material vegetal se cambió cada dos días. Se realizaron 15 réplicas por cada una de las especies de



eucalipto.

Los tratamientos se realizaron sobre hojas colectadas el mismo día de árboles adultos de *E. viminalis*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *E. tereticornis*, *E. maidenii* y *E. globulus*.

Se realizó un seguimiento diario de las cohortes desde el estadio ninfal I (N1) hasta la muerte del último individuo adulto. Se registró diariamente el número de sobrevivientes y la presencia de exuvias para determinar la duración de cada estadio.

Con los datos recolectados se confeccionaron las tablas de vida horizontales, calculando los siguientes factores:

- $(l_x)$ : Proporción de sobrevivientes diarios y por estadio
- $(d_x)$ : Número de individuos que mueren entre las edades  $x-1$  y  $x$
- $(q_x)$ : Probabilidad de morir entre las edades  $x-1$  y  $x$
- $(e_x)$ : Esperanza de vida
- $(L_x)$ : Media de la probabilidad de supervivencia entre dos edades sucesivas
- $(T_x)$ : Número total de días que quedan por vivir a los sobrevivientes que han alcanzado la edad  $x$

Con estos datos se construyeron las curvas de supervivencia por día y por estadio.

### **c) Análisis estadístico**

Para clasificar las especies de *Eucalyptus* de acuerdo a las preferencias de oviposición de estos insectos, los datos se analizaron en matrices de comparaciones de pares (Appleby, 1983; Boyd y Silk, 1983; de Vries, 1995, 1998; de Vries *et al.*, 2006), siguiendo la metodología descrita en el capítulo precedente.

Las curvas de supervivencia se compararon, previa transformación de los datos

de supervivencia por edades ( $\ln(l_x)$ ), mediante Ancova, tomando a la edad de los individuos como covariable, mediante el test de Tukey. Se consideró un  $\alpha = 0,05$ . Para todos los análisis se utilizó el programa Infostat.

Al encontrar diferencia significativa entre curvas, y para analizar cual era dicha diferencia, entonces se realizó el test “log Rank”, para analizar cada par de curvas de supervivencia y se compararon con los datos de preferencia de alimentación obtenidos en el Capítulo III.

## **RESULTADOS:**

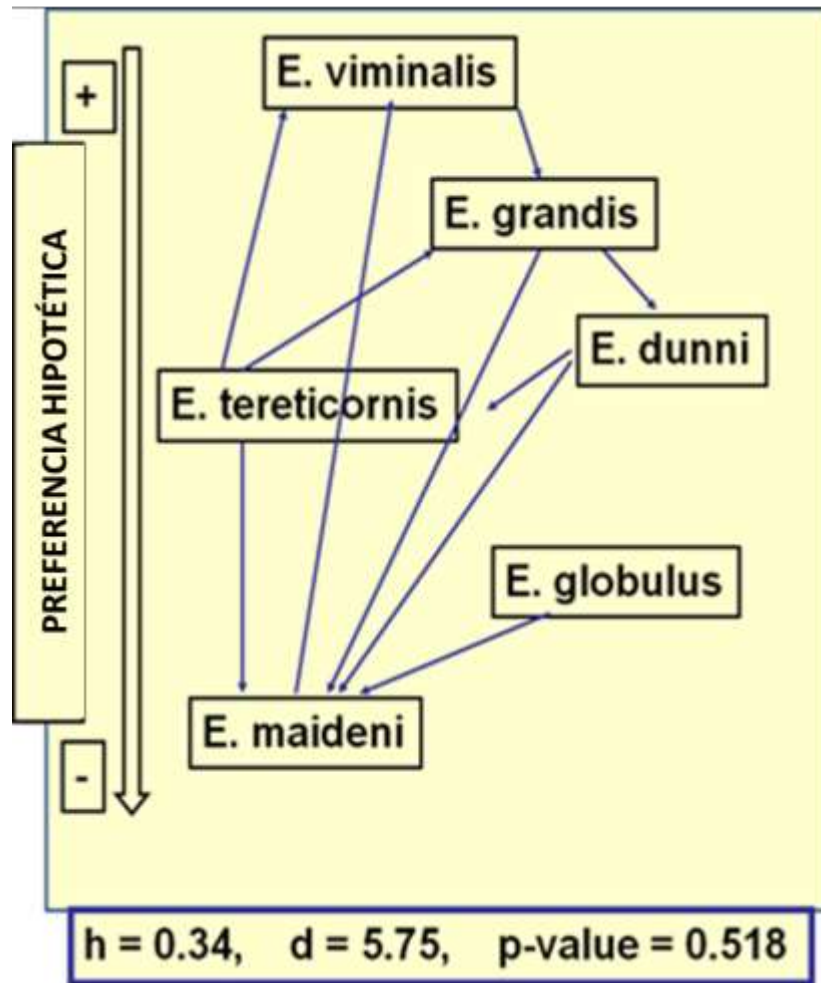
### **a) Preferencia de oviposición**

La Tabla 4.1 muestra los resultados de las comparaciones pareadas, mientras que la Figura 4.2 muestra el análisis de preferencias, con las especies ordenadas por preferencia de acuerdo con el valor de puntuación de David.

Los resultados del análisis muestran un índice de linealidad de Landau  $h = 0,34$ , este valor indica que las preferencias son muy débiles, no lineales o no jerárquicas. El valor  $d$  ( $d=5,75$ ) diferente de 0 indica la existencia de varios bucles. Estos resultados muestran que no existe una jerarquía de preferencias de oviposición significativa ( $p = 0,518$ ) ni estricta por *T. peregrinus* entre las seis especies de eucaliptos ensayadas.

**Tabla 4.1.** Matriz de preferencia con valores de comparaciones pareadas.

	<i>E. viminalis</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. tereticornis</i>	<i>E. dunni</i>	<i>E. maideni</i>	<i>E. globulus</i>
<i>E. viminalis</i>	0	8	14	5,5	12,5	5,5
<i>E. grandis</i>	12	0	12,5	6	3	6,5
<i>E. tereticornis</i>	6	7,5	0	14,5	6,5	7,5
<i>E. dunni</i>	14,5	12	5,5	0	10	7
<i>E. maideni</i>	7,5	17	13,5	10	0	18
<i>E. globulus</i>	14,5	13,5	12,5	13	2	0



**Figura 4.1.** Preferencias de oviposición significativas de *T. peregrinus* entre las especies de *Eucalyptus* ensayadas. Se muestra el valor de linealidad (h) y el valor de puntuación de David. Un valor h de 0,34 indica que no existe una jerarquía lineal estricta en las preferencias probadas. Un valor d de 5,75 indica la existencia de bucles en la jerarquía de preferencias. Las flechas indican el sentido de la preferencia.

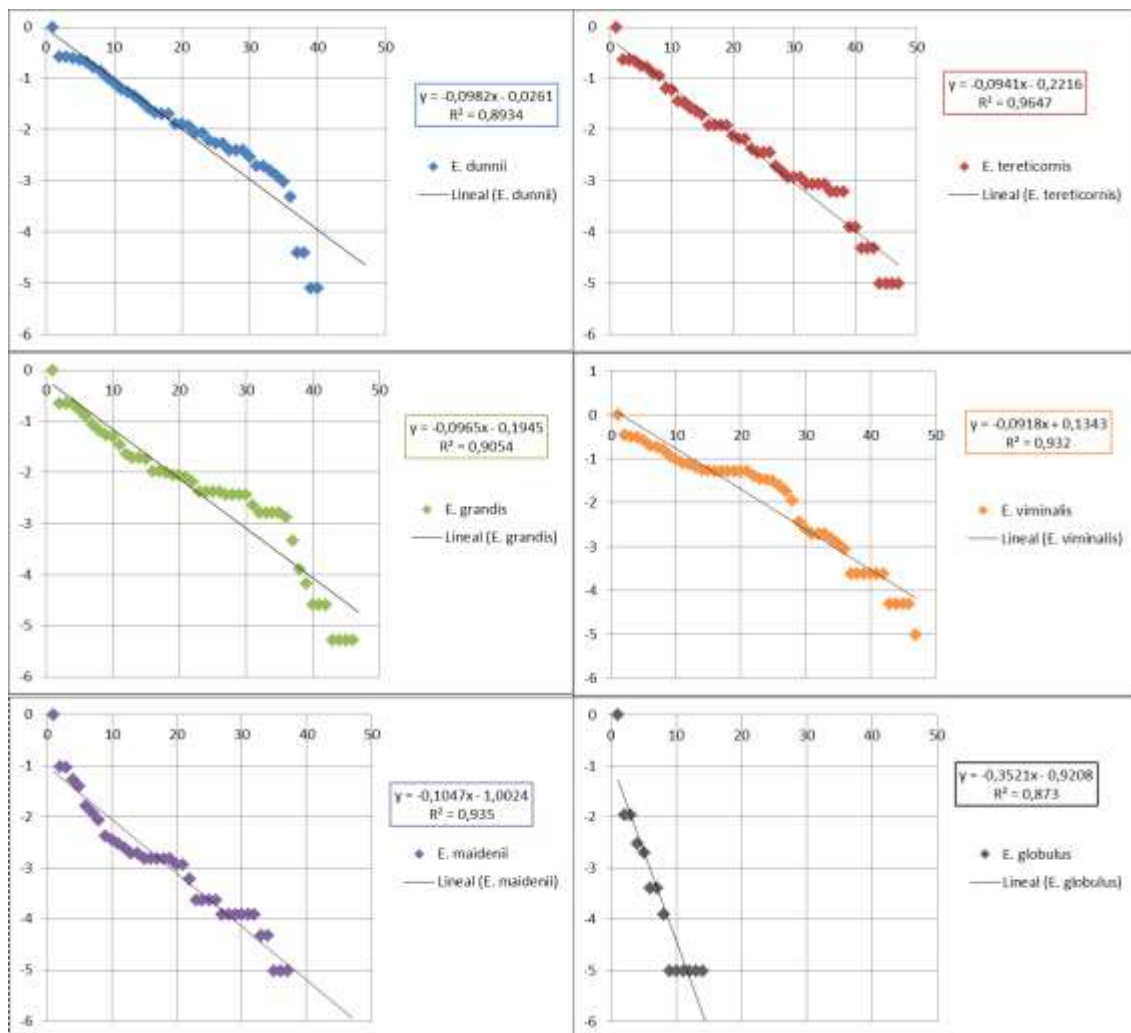
## b) Desempeño

Los resultados obtenidos indican que la supervivencia y el desarrollo ninfal de *T. peregrinus* fueron diferentes, dependiendo de las diferentes especies de eucalipto ofrecidas como alimento.

La comparación de las curvas de supervivencia de *T. peregrinus* sobre las

distintas especies de *Eucalyptus*, difirieron significativamente entre sí (F: 123,48;  $p < 0,0001$ ), separando las especies ensayadas en tres grupos bien diferenciados.

Los datos obtenidos muestran que las especies de *Eucalyptus* sobre las que *T. peregrinus* tuvo mayor supervivencia fueron *E. viminalis* y *E. dunnii*, y los peores hospedadores resultaron *E. globulus* y *E. maidenii*, mientras que la cría sobre *E. grandis* y *E. tereticornis* mostró valores intermedios (Fig. 4.2).



**Figura 4.2.** Curvas de supervivencia de *T. peregrinus* diarias por especies. Ln de la supervivencia en función del tiempo.

Al analizar la supervivencia de a pares, se encontró diferencias significativas entre las diferentes especies, como se muestra en la Tabla (4.2).

**Tabla 4.2:** Test log Rank, valores p, que indican si existen diferencias significativas entre las curvas de supervivencia.

Especies de <i>Eucalyptus</i>	<i>E. viminalis</i>	<i>E. maidenii</i>	<i>E. globulus</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. tereticornis</i>
<i>E. viminalis</i>					
<i>E. maidenii</i>	0,00000				
<i>E. globulus</i>	0,00000	0,00001			
<i>E. grandis</i>	0,03172	0,00003	0,00000		
<i>E. tereticornis</i>	0,04360	0,00001	0,00000	0,77270	
<i>E. dunnii</i>	0,12744	0,00000	0,00000	0,49759	0,69050

Se confeccionaron las tablas de vida sobre las distintas especies de eucaliptos por día y por estadio.

**Tabla 4.3.** Tabla de vida por estadio de *T. peregrinus* alimentado sobre *Eucalyptus viminalis*. El 27.3% de las ninfas 1 llega a adulto

Estadio	n(x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex
N1	150	1	0,37333	0,37333	0,81333	2,6	2,6
N2	94	0,62667	0,15333	0,24468	0,55	1,78667	2,85106
N3	71	0,47333	0,07333	0,15493	0,43667	1,23667	2,61268
N4	60	0,4	0,07333	0,18333	0,36333	0,8	2
N5	49	0,32667	0,05333	0,16326	0,3	0,43667	1,33673
Adulto	41	0,27333	0,27333	1	0,13667	0,13667	0,5

**Tabla 4.4.** Tabla de vida por estadio de *T. peregrinus* alimentado sobre *Eucalyptus dunnii*. El 19.75% de las ninfas 1 llega a adulto

Estadio	n(x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex
N1	162	1	0,4321	0,4321	0,78395	2,27778	2,27778
N2	92	0,56790	0,11728	0,20652	0,50926	1,49383	2,63043
N3	73	0,45061	0,13580	0,30137	0,38272	0,98457	2,18493
N4	51	0,31481	0,06790	0,21568	0,28086	0,60185	1,91176
N5	40	0,24691	0,04938	0,2	0,22222	0,32099	1,3
Adulto	32	0,19753	0,19753	1	0,09876	0,09876	0,5

**Tabla 4.5.** Tabla de vida por estadio de *T. peregrinus* alimentado sobre *Eucalyptus grandis*. El 13.3% de las ninfas 1 llega a adulto

Estadio	n(x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex
N1	195	1	0,47692	0,47692	0,76154	2,04872	2,04872
N2	102	0,52308	0,11795	0,22549	0,46410	1,28718	2,46078
N3	79	0,40513	0,12308	0,3038	0,34359	0,82308	2,03164
N4	55	0,28205	0,07692	0,27273	0,24359	0,47949	1,7
N5	40	0,20513	0,07179	0,35	0,16923	0,2359	1,15
Adulto	26	0,13333	0,13333	1	0,06667	0,06667	0,5

**Tabla 4.6.** Tabla de vida por estadio de *T. peregrinus* alimentado sobre *Eucalyptus tereticornis*. El 15.3% de las ninfas 1 llega a adulto

Estadio	n(x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex
N1	150	1	0,47333	0,47333	0,76333	2,08667	2,08667
N2	79	0,52667	0,17333	0,32911	0,44	1,32333	2,51266
N3	53	0,35333	0,04	0,11321	0,33333	0,88333	2,5
N4	47	0,31333	0,07333	0,23404	0,27667	0,55	1,75532
N5	36	0,24	0,08667	0,36111	0,19667	0,27333	1,13889
Adulto	23	0,15333	0,15333	1	0,07667	0,07667	0,5

**Tabla 4.7.** Tabla de vida por estadio de *T. peregrinus* alimentado sobre *Eucalyptus maidennii*. El 9% de las ninfas 1 llega a adulto

Estadio	n(x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex
N1	150	1	0,64	0,64	0,68	1,27333	1,27333
N2	54	0,36	0,16667	0,46296	0,27667	0,59333	1,64815
N3	29	0,19333	0,09333	0,48276	0,14667	0,31667	1,63793
N4	15	0,1	0,04	0,4	0,08	0,17	1,7
N5	9	0,06	0	0	0,06	0,09	1,5
Adulto	9	0,06	0,06	1	0,03	0,03	0,5



**Tabla 4.8.** Tabla de vida por estadio de *T. peregrinus* alimentado sobre *Eucalyptus globulus*. El 0% de las ninfas 1 llega a adulto.

Estadio	n(x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex
N1	150	1	0,86	0,86	0,57	0,7	0,7
N2	21	0,14	0,1	0,71428	0,09	0,13	0,92857
N3	6	0,04	0,02667	0,66667	0,02667	0,04	1
N4	2	0,01333	0,00667	0,5	0,01	0,01333	1
N5	1	0,00667	0,00667	1	0,00333	0,00333	0,5
Adulto	0	0	0		0	-1,1926 <sup>-16</sup>	0,0

Las mayores tasas de mortalidad de ninfas se registraron en el primer estadio ninfal que muestra la tasa de mortalidad específica más alta, siendo la menor de todas la ocurrida en *E. viminalis* ( $qx = 0,37$ ) y la mayor en *E. globulus* ( $qx = 0,86$ ), variando en el resto de los estadios.



**Figura 4.3.** Logaritmo natural (Ln) de la supervivencia por estadio de individuos de *T. peregrinus* alimentados sobre las distintas especies de *Eucalyptus* ensayadas.

## DISCUSIÓN

Al oviponer un insecto fitófago debe elegir entre plantas hospedadoras de diferente calidad respecto del desempeño de sus crías, debido a que la disponibilidad de sustratos adecuados a menudo está restringida espacial y temporalmente. La elección, sin embargo, suele depender no sólo de las preferencias exhibidas por el insecto y la oferta ambiental, sino también por estado del insecto respecto del tiempo estimado que le queda por vivir y del complemento de huevos por oviponer. En este marco conceptual, si la hembra es demasiado exigente respecto a dónde oviponer, puede invertir demasiado tiempo en la búsqueda de la planta adecuada y morir antes de que haya depositado todos sus huevos, situación denominada “*time limited*”. Por el contrario, si no es lo suficientemente selectiva, puede depositar sus huevos en plantas de diferente calidad y agotarlos cuando aún le queda tiempo por vivir, situación denominada “*egg limited*” (Stephens y Krebs, 1986; van Alphen y Visser, 1990).

Luego, en condiciones óptimas, sería esperable que las plantas seleccionadas por el insecto debido a su superior calidad alimentaria sean también las seleccionadas para oviponer ya que permiten el mejor desempeño de la descendencia. Este es el caso de *Altica fragariae* Nakane (Coleoptera: Chrysomelidae) (Xue *et al.*, 2007).

Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio indican una situación distinta. Las hembras de *T. peregrinus* no mostraron una preferencia de oviposición definida y por lo tanto el desempeño de la descendencia aparece desacoplado de la preferencia de oviposición, pero no así con la de alimentación. Este fenómeno fue observado por otros autores, en los que la preferencia de oviposición fue diferente a la preferencia de alimentación y/o al desempeño de su descendencia (Martinez *et al.*, 2017).

Estos resultados aparentemente contradictorios, permiten indagar acerca de cuales pueden ser los mecanismos responsables de este desacople. Varios factores

pueden estar influyendo de manera dispar las distintas decisiones del insecto. Uno de ellos es que el insecto puede tener poca capacidad sensorial o locomotora. Esto sería compatible con una baja presión de selección por estas características, debido a una ubicua dispersión de diferentes hospederas adecuadas en su lugar de origen. Una hipótesis alternativa sería la teoría del forrajeo óptimo (Scheirs y De Bruyn, 2002) según la cual una hembra que arriba a un árbol tiende a permanecer en ese hospedador, debido a la incertidumbre de encontrar un hospedador de mayor calidad. Otro posible factor estaría representado por las plantas hospederas presentes, que sería diferentes a las de su lugar de origen, por lo que su periodo de adaptación a los nuevos hospedantes no está resuelto aún en el territorio nuevo.

Por último, los resultados son compatibles con la teoría del espacio libre de enemigos naturales. En este sentido, la baja selectividad por hospedadores donde oviponer, desacoplada de la alta selectividad alimentaria, puede actuar como mecanismo de dispersión del parasitismo dificultando así el aprendizaje de búsqueda por parte del enemigo natural, con la consiguiente disminución del parasitismo total.

En general, las especies de plantas que carecen de una historia evolutiva en asociación con herbívoros invasores han demostrado poseer menos defensas contra ellos y esto favorece al herbívoro en su éxito en la invasión (Parker *et al.*, 2006; Gandhi y Herms, 2010; Desurmont *et al.*, 2011; Woodard *et al.*, 2012). Sin embargo, casi todas las especies ofrecidas durante las pruebas de laboratorio fueron utilizadas como sustratos de oviposición, indicando que las hembras de *T. peregrinus* utilizan un amplio espectro de hospedadores de eucaliptos y no presentan preferencia.

Esto se puede deber además, al tiempo de vida de los adultos. Cuando las hospedadoras de mayor calidad son raras o están ausentes, las hembras podrían oviponer sobre otras especies menos favorables al acortarse su tiempo de vida. De esta manera, la experiencia previa puede aumentar la aceptabilidad de un hospedador particular (Jaenike, 1978; Kareiva, 1982; Rausher, 1985), aun cuando el desempeño

sobre el mismo sea subóptimo. Los modelos desarrollados por estos últimos autores muestran varios mecanismos que favorecerían a los individuos que desvían sus jerarquías de preferencia hacia las especies hospedadoras más abundantes, ya que es más probable que las hayan experimentado en el pasado. En particular, como las especies hospedadoras más abundantes son encontradas con más frecuencia, el comportamiento de aprendizaje puede conducir a una mayor preferencia por dichas especies, independientemente de sus preferencias innatas y el desempeño de la descendencia, e ignorar cualquier especie rara (aun de mayor calidad) incluso cuando la hembra se posa en ella (West y Cunningham, 2002). Esto se ha demostrado, por ejemplo, con el comportamiento del lepidóptero *Helicoverpa armigera* (Hübner), como resultado del aprendizaje previo de la hembra (Cunningham *et al.*, 1998). La inconsistencia encontrada entre el desempeño y la preferencia de oviposición se ha registrado también para otras especies (Thompson, 1994; Mayhew, 1998; Forister, 2004).

El desempeño de las ninfas de *T. peregrinus* en las diversas plantas hospedadoras fue diferente. Se encontró una estrecha relación entre el desarrollo y la supervivencia de las ninfas, y la preferencia de alimentación de los adultos analizada en el capítulo anterior. La mortalidad específica de los distintos estadios de *T. peregrinus* en las distintas especies de *Eucalyptus* mostró un patrón similar al observado por otros autores, con tasas de mortalidad más altas durante los primeros estadios ninfales (Soliman *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2014). En general, el desempeño de *T. peregrinus* en *E. viminalis* fue superior a las otras especies. *E. globulus* demostró ser un alimento subóptimo para las ninfas de *T. peregrinus*, con tasas de mortalidad más altas, particularmente en los primeros estadios, no pudiendo completar su ciclo de vida. Estos resultados están claramente en línea con la preferencia estrictamente lineal de alimentación.

Los resultados presentados aquí son consistentes con las observaciones de campo de la densidad y daño de insectos, donde *E. viminalis*, *E. grandis*, y *E. tereticornis*

son las especies preferidas por los adultos (Jacob y Nesar, 2005; Cuello *et al.*, 2014), mientras que las especies menos preferidas o sobre las cuales el desempeño es menor, tienen menores densidades de insectos y daños (Ide *et al.*, 2011).

Los resultados de la tesis presentados este Capítulo son relevantes, particularmente cuando son analizados a la luz de los resultados presentados en los dos Capítulos anteriores. *Thaumastocoris peregrinus* muestra claras diferencias en su desempeño medido a través de la supervivencia y el tiempo de desarrollo, según la especie de *Eucalyptus* sobre la que se alimenta. Estas diferencias en el desempeño, se correlacionan con la preferencia de alimentación del insecto, la cual es estrictamente lineal y sin ningún bucle (Capítulo 3, Fig. 3.2) en la jerarquía de preferencias. Esta correlación entre preferencia de alimentación de los adultos y desempeño resulta claramente adaptativa y se han identificado los aceites esenciales probablemente responsables de la preferencia detectada, por un lado al atraer al insecto al hospedador y por otro lado un posible repelente. Es la combinación de ambos aceites esenciales la que parece mediar en la preferencia de alimentación. Resulta inesperado e interesante el encontrar una casi absoluta correlación entre desempeño y preferencia de alimentación, no así con la preferencia de oviposición.

El análisis cuyos resultados son presentados en la Fig. 4.1 muestra la falta completa de linealidad y un promedio de 5,75 bucles (relaciones no lineales) para solo 6 especies ensayadas. Esta aparente falta de adaptación, puede ser explicada por varios mecanismos, algunos de los cuales fueron discutidos.

El tiempo de vida de los adultos de *T. peregrinus* así como la baja capacidad sensorial, pueden atentar contra una alta selectividad en la preferencia de oviposición, y aunque resultan consistentes con los resultados obtenidos, no parecen ser explicaciones suficientemente sólidas. Por un lado el tiempo de vida puede no ser un factor relevante, dado que los adultos viven alrededor de 30 días, en la mitad de los cuales las hembras son capaces de oviponer. No parece que este factor imponga un límite a la selectividad

del insecto para oviponer, sobre todo si de ésta depende su éxito reproductivo. Por otro lado, la baja capacidad sensorial, detectada a nivel del sistema olfativo, no implica la falta de capacidad de reconocimiento de un hospedador apropiado: cuando se le permite el acceso directo, el insecto reconoce y selecciona los mejores hospedadores desde el punto de vista de su futuro desempeño.

La presencia de un rango de especies de Eucaliptos hospedadores distintas aquí que en su rango de origen resulta evidente con solo consultar la bibliografía, pero no es posible experimentar con ellas aquí, donde el rango de hospedadores disponibles es mucho mas restringido. Tampoco es posible indagar acerca del espacio libre de enemigos naturales, dada la ausencia de los mismos en Argentina. Si bien se han detectado algunas especies que han comenzado a incorporar a *T. peregrinus* en sus dietas y se han realizado liberaciones locales de uno de sus parasitoides (Andorno, com pers.), la situación es aun demasiado reciente como para esperar resultados claramente relevantes. Son estas preguntas que quedaran abiertas a futuros proyectos de investigación sobre esta especie.

## **Capítulo V**

### **Estrategias para el manejo de *Thaumastocoris* *peregrinus***

## Manejo integrado de plagas

El manejo integrado de plagas (MIP) es una estrategia conformada por un conjunto de técnicas tendientes a reducir el impacto de las especies plaga en los sistemas agrícolas. El manejo de plagas mediante un esquema integrado, surge en respuesta a los efectos negativos derivados del uso intensivo de insecticidas de síntesis química como única práctica de control. Según Walter (2003) esta nueva visión sobre la sanidad de los cultivos permite diferenciar claramente dos conceptos: mientras que tradicionalmente el “control” de plagas perseguía “eliminar” al agente de daño, el “manejo” busca sostener sus poblaciones por debajo de un nivel de daño económico. En la aplicación del MIP la selección y aplicación de técnicas requiere de un conocimiento adecuado sobre el cultivo así como de la ecología de la especie plaga y la interacción con sus enemigos naturales (Thacker, 2002).

En cultivos pluri-anales como los forestales, la dinámica espacial y temporal de la plaga, el tamaño y forma de los parches de plantación, y las condiciones del ambiente donde estas se desarrollan, son relevantes al momento del diseño de un plan de manejo basado en el concepto del MIP.

Dentro de las técnicas comúnmente empleadas para el MIP se incluyen:

- la selección de plantas hospedadoras resistentes (por ejemplo, por mejoramiento genético);
- la conducción del cultivo mediante la asociación y rotación de especies;
- y el control activo del agente de daño, a través del control físico o mecánico, biológico e incluso, químico. Precisamente lo que propone el manejo integrado, es armonizar las diversas técnicas de control, favoreciendo el impacto de los enemigos naturales (control biológico) al manejar de una manera selectiva y



oportuna el uso de insecticidas (control químico), que debe emplearse como refuerzo dentro del programa y no como un elemento disruptor del equilibrio (Viggiani, 1990). Sin embargo, en el caso particular de *T. peregrinus*, en Argentina no hay plaguicidas disponibles registrados.

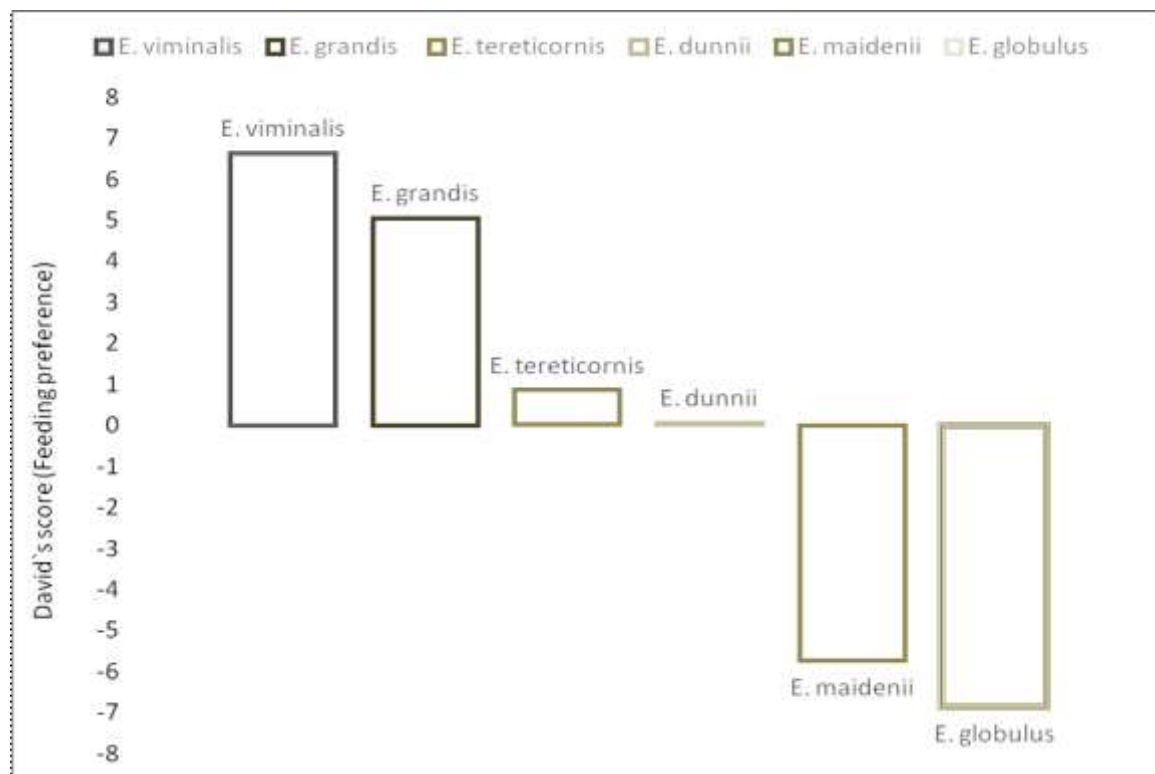
Hasta el momento, no existe un plan de manejo de la chinche del eucalipto en la Argentina. Al igual que en otros países de la región se está apostando al control biológico mediante la importación, liberación y posterior establecimiento de potenciales enemigos naturales, tales como el parasitoide oófago *Chleruchoides noacke* (Hymenoptera, Mymaridae) (Lin *et al.*, 2007; Barbosa *et al.*, 2017). Sin embargo, la introducción de un enemigo natural supuestamente adecuado a las condiciones ambientales del nuevo ecosistema, conlleva su cuarentena, multiplicación y liberación controlada. Aún si se superaran estos pasos y el enemigo natural se establece, es posible que el nivel de control alcanzado no sea suficiente por sí solo como para disminuir significativamente la densidad poblacional de la plaga. En Sydney, Australia, estudios realizados por Cross (2009) en laboratorio y a campo con *C. noackae* mostraron un porcentaje de parasitismo modesto, que osciló entre el 25% y el 21%, respectivamente.

### **5.1. Estrategias de manejo**

#### *Selección de variedades o clones resistentes de Eucalyptus*

La susceptibilidad de los árboles al ataque de artrópodos plaga está relacionada básicamente con el estado fisiológico en el que se encuentren y por condiciones intrínsecas al individuo. En el primer caso, la respuesta no será la misma si se trata de un árbol vigoroso creciendo en un sitio sin condiciones limitantes, que si el árbol está estresado por factores bióticos (por ejemplo enfermedades) o abióticos (por ejemplo falta de humedad o nutrientes). Por el contrario, en el segundo caso, aún en árboles creciendo bajo las mismas condiciones, se verifica una respuesta diferencial que está dada por características inherentes a cada uno de los individuos en gran medida

reguladas genéticamente (Pastorino, 2009). Como vimos en los capítulos precedentes, las plantas ponen de manifiesto distintos mecanismos de defensas que le brindan protección frente al insecto, afectando la fertilidad, longevidad, crecimiento u oviposición de estos. Por ejemplo, en los estudios de preferencia alimentaria de *T. peregrinus* presentados en el Capítulo 3, se encontró una menor elección por *E. globulus* y *E. maidenii* que por las otras especies analizadas (Fig. 5.1), mostrando en los primeros una importante antixenosis. En función de la preferencia de la chinche por las distintas especies de *Eucalyptus* se podría recomendar la incorporación de los genotipos menos preferidos en los planes de mejoramiento genético.



**Figura 5.1.** Preferencia alimentaria de *T. peregrinus* entre las especies de *Eucalyptus* probadas. Valor de linealidad (h): h=1 indica una jerarquía lineal estricta en las preferencias probadas, h=0 indica que no hay bucles en la jerarquía lineal de preferencias) (P = 0.022).

Complementariamente, al analizar la resistencia por antibiosis (en capítulo 4), se observó que estas mismas especies de *Eucalyptus* producen la mayor mortalidad de ninfas de *T. peregrinus* cuando son alimentadas exclusivamente con dichas especies (Fig. 4.3).

## 5.2. Control biológico

La introducción de especies en nuevos entornos y su establecimiento como especies invasoras plaga constituye un problema creciente a escala mundial. Una razón para este fenómeno es la ausencia de controles naturales en el nuevo rango invadido (Carvalho, 2009). El control biológico tal como se lo conoce actualmente se inició en California alrededor de 1888 como práctica para el control de la cochinilla algodonosa *Icerya purchasi* Maskell en cultivos cítricos mediante el coccinélido *Rodolia cardinalis* (Mulsant) (Van Driesche y Bellows, 1996). Transcurridos aproximadamente 100 años desde 1888, se llevaron a cabo alrededor de 1200 programas de control biológico en todo el mundo con enemigos naturales nativos y exóticos (Van Driesche y Bellows, 1996). De estos programas, alrededor del 17% lograron completo control de la plaga y un 43% control parcial.

En el caso particular de plagas forestales un programa de control biológico es la mejor alternativa debido a los altos costos del control químico y en el caso de *T. peregrinus*, como fue mencionado, porque no hay plaguicidas disponibles registrados en Argentina.

A la fecha de esta tesis, dos microhimenópteros mimaridos, *Cleruchoides noackae* Lin y Huber y una especie no identificada del género *Stethynium* Enock, se han confirmado atacando los huevos de *T. peregrinus* en Australia (Lin *et al.*, 2007). *Cleruchoides noackae*, se ha introducido en Sudáfrica y América del Sur (Nadel y Noack, 2012), pero los resultados sobre el éxito del uso de estos enemigos naturales a campo

en sus rangos introducidos aún no se han publicado. Por otro lado, Souza *et al.* (2012) reportaron al depredador *Supputius cincticeps* (Hemiptera: Pentatomidae) alimentándose de *T. peregrinus* en Brasil, que constituye el primer registro de enemigos naturales que se alimentan de la chinche del bronceado en Sudamérica.

## **Objetivo**

Determinar la existencia de posibles enemigos naturales locales de *T. peregrinus*

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

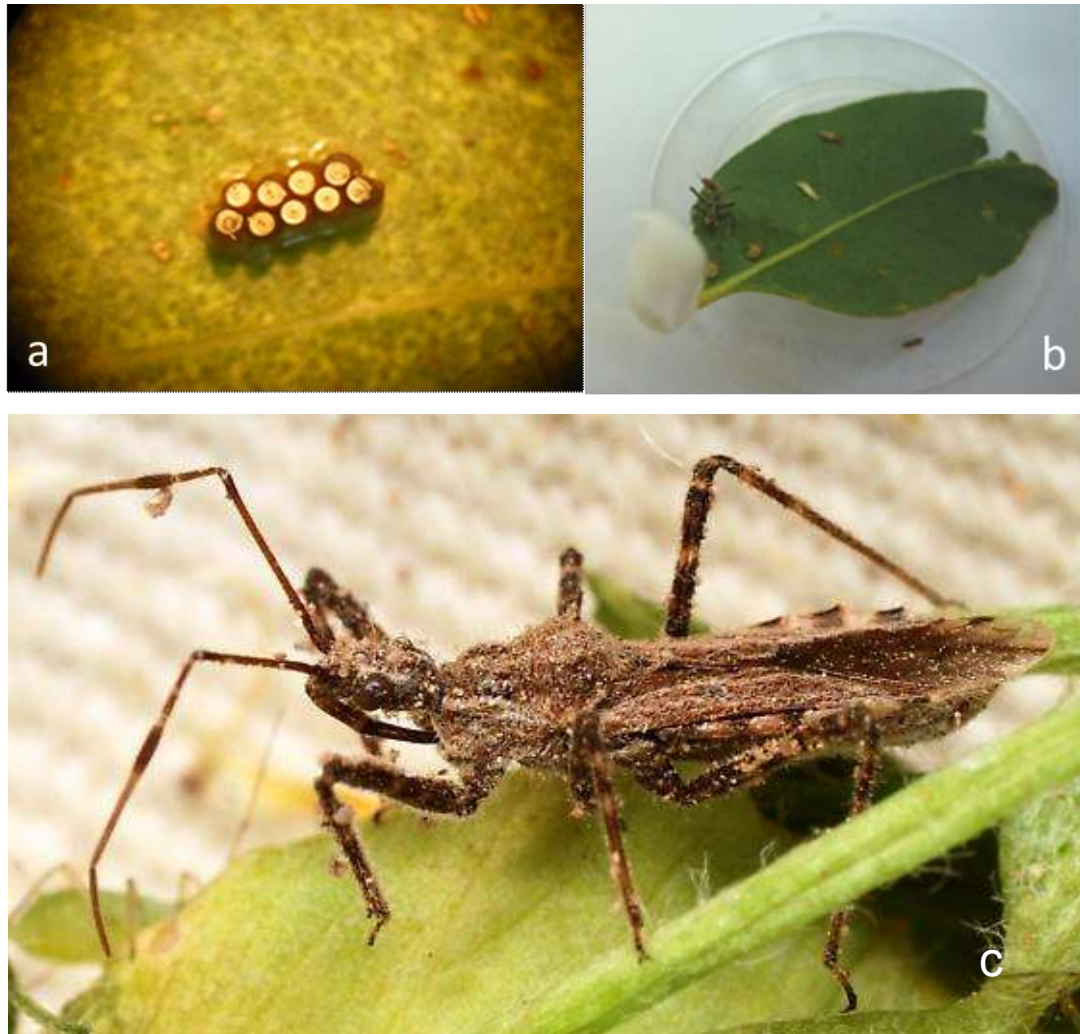
Para determinar si existen en la provincia de Buenos Aires enemigos naturales que puedan estar utilizando como recurso a *T. peregrinus*, se llevó a cabo desde diciembre de 2010 hasta febrero de 2011 un programa de muestreo intensivo para buscar enemigos naturales. El muestreo se llevó a cabo en el bosque de eucaliptos del *arboretum* experimental en la Universidad Nacional de Luján.

Dos especies de hemípteros fueron registrados repetidamente consumiendo ninfas y adultos de *T. peregrinus*. Los huevos de cada especie depredadora fueron recolectados de hojas de *E. camaldulensis* infestado con *T. peregrinus* y se criaron individualmente en condiciones de laboratorio (26 ° C y 60% HR). Las ninfas depredadoras fueron alimentadas *ad libitum* con ninfas grandes (estadios IV y V) y adultos de *T. peregrinus*. Se registró el consumo y el tiempo de desarrollo de la etapa ninfal de cada depredador. Los especímenes adultos de cada especie de depredador obtenidos en el laboratorio se colocaron en tubos con alcohol a 70°.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Dos especies fueron encontradas asociadas a *T. peregrinus*. Las especies fueron identificadas por la Dra. Cecilia Melo y el Dr. Pablo Dellapé como *Atrachelus cinereus* Fabricio (Hemiptera: Reduviidae: Harpactorinae) (Fig. 5.3) y *Podisus australis* Berg

(Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae) (Fig. 5.4). Los especímenes voucher fueron depositados en la colección del Museo de Ciencias Naturales de La Plata.



**Figura 5.3.** a. Oviposición de *Atrachelus cinereus*, b. detalle de nlnfa de *A. cinereus* alimentándose de adultos de *T. peregrinus*, c. Adulto de *A. cinereus*.



**Figura 5.4.** *Podisus australis*. a. detalle de huevos y ninfas I, b. Ninfas alimentándose de adulto de *T. peregrinus*.

Ambas especies pudieron completar su desarrollo ninfal con *T. peregrinus* como el único recurso alimenticio, aunque solo una de las seis ninfas de *P. australis* testeadas sobrevivió hasta la edad adulta (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1.** La duración media en días ( $\pm$ EE) de los estadios ninfales y el número medio ( $\pm$ EE) de *Thaumastocoris peregrinus* consumidos por cada etapa ninfal de dos especies depredadoras.

Especies	Variable	Ninfa I	Ninfa II	Ninfa III	NinfalIV (*)	Ninfa V (*)	Total del estado Ninfal (*)
<i>Atrachelus cinereus</i>	Tiempo de desarrollo (días)	6.9 $\pm$ 0.34	3.7 $\pm$ 0.30	4.2 $\pm$ 0.80	6.6 $\pm$ 0.40	11.0 $\pm$ 1.15	34.0 $\pm$ 0.58
	Consumo	5.4 $\pm$ 0.53	4.5 $\pm$ 1.18	16.4 $\pm$ 1.96	33.0 $\pm$ 2.67	47.3 $\pm$ 4.91	101.7 $\pm$ 4.63
<i>Podisus australis</i>	Tiempo de desarrollo (días)	8.0 $\pm$ 0.58	7.3 $\pm$ 0.67	6.0 $\pm$ 0.00	6.0 $\pm$ 0.00	10.0	37.0
	Consumo	30.0 $\pm$ 2.38	16.7 $\pm$ 8.98	22.0 $\pm$ 4.00	-	-	-

*Atrachelus cinereus* es una especie depredadora ampliamente distribuida en Argentina y otros países de América Central y del Sur (Melo *et al.*, 2004; Carpintero y De Biase, 2011; Coscarón y Martin Park, 2011) que se alimenta de pequeños insectos, especialmente chicharritas (Hemiptera, Auchenorrhyncha) (Nanni *et al.*, 2011), y *Podisus australis* ha sido registrado en Argentina y Uruguay. Aunque hay poca información disponible sobre los hábitos de alimentación de *P. australis* (Dellapé *et al.*, 2003), se la observó alimentándose de larvas del gorgojo del eucalipto, *Gonipterus* spp.. Debido a que este depredador se considera una especie generalista, es probable que pueda consumir esta nueva fuente de alimento ya que tanto el gorgojo del eucalipto como *T. peregrinus* comparten el mismo hábitat (Souza *et al.*, 2012).

Por otro lado, Cuello *et al.* (2014) identificaron 7 especies de insectos entomófagos, tanto nativos como exóticos, asociados a las plagas de *Eucalyptus* sp.: cinco depredadores generalistas y dos parasitoides específicos. Entre los depredadores se encontraron larvas de *Chrysoperla externa* Hagen y *Ceraeochrysa* sp. (Neuroptera: Chrysopidae) alimentándose de ninfas de *T. peregrinus* y de *Glycaspis brimblecombei* a lo largo de todo el período de muestreo, *Heza binotata* Lepageletier & Serville (Hemiptera: Reduviidae) fue hallada frecuentemente en árboles de *E. dunnii* infestados con *T. peregrinus*. En este caso no se registraron eventos de depredación “in situ”, sin embargo pruebas realizadas en el laboratorio permitieron confirmar que tanto las ninfas como los adultos de la chinche son consumidas por el reduvido, posibilitando al depredador completar su desarrollo hasta el estado adulto. Se observaron ninfas de *Tylospilus chilensis* Spinola (Hemiptera: Pentatomidae) alimentándose de *T. peregrinus* y larvas de *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) depredando ninfas de *G. brimblecombei*.

## CONCLUSIÓN

Los resultados de esta parte de la tesis proporcionan el primer registro de estos dos predadores nativos alimentándose de *T. peregrinus* en campo. Este dato, junto con los registros del depredador *Supputius cincticeps*, indican claramente que la chinche comenzó a integrarse en la estructura trófica local que ocurre en árboles de Eucalipto en su nuevo rango adoptado.

Tal información mejora la comprensión de las interacciones entre predadores nativos e insectos exóticos y, por lo tanto, podría ser útil para el manejo integrado de plagas.

### 5.3. Control químico

A la fecha de esta tesis, no existen insecticidas reglamentados para el control de *T. peregrinus*. Dentro del grupo de insecticidas de acción sistémica recomendados para su uso en plantaciones forestales, se pueden mencionar los siguientes principios activos: Acefato, Acetamiprid, Imidacloprid y Tiametoxam (Cichón *et al.*, 2004; Noack *et al.*, 2009; Machado *et al.*, 2015). Todos estos productos son neurotóxicos.

El Acetamiprid, Imidacloprid y Tiametoxam son del grupo de los Neonicotinoides. Acetamiprid es un insecticida sistémico para aplicaciones al suelo y foliares usado en el control de Hemípteros, Tisanópteros y Lepidópteros en un amplio rango de cultivos (Mateu-Sánchez *et al.*, 2003). Acetamiprid se mueve a través del xilema, en forma acrópeta. El mismo protege los brotes en crecimiento y tiene un efecto residual prolongado (Ambrose, 2003; Araya *et al.*, 2006; Elbert *et al.*, 2008).

El Imidacloprid es un insecticida sistémico y de contacto, es de amplio espectro y se puede absorber tanto por el follaje como por las raíces. El Imidacloprid, en diferentes formas de aplicación muestra una buena traslocación acrópeta a través del xilema hacia



brotos y hojas, y una pobre translocación basípeta hacia órganos de reserva de la planta (Sur y Stork, 2003). Este ha sido efectivo en el control de barrenadores e insectos del tipo picador-suctor que atacan árboles (Gill *et al.*, 1999; McCullough *et al.*, 2004; Docola *et al.*, 2005). Esta sustancia ha tenido un fuerte efecto sobre otros hemípteros en citrus (Bethke *et al.*, 2001; Castle *et al.*, 2005).

Tiametoxam es un insecticida sistémico, utilizado para el control de plagas en diversos cultivos, por medio de pulverizaciones en hoja, aplicaciones al suelo y tratamiento de semillas (Andrei, 2005). Tiametoxam se trasloca vía apoplástica, con un movimiento sistémico a través del xilema (Westwood *et al.*, 1998; Buchholz y Nauen, 2002; Maienfisch *et al.*, 2001; Weichel y Nauen, 2004). El mismo permite controlar un amplio rango de insectos del tipo picador-suctor y masticadores en varios cultivos (Maienfisch *et al.*, 2001).

El Acefato es un insecticida organofosforado del grupo de los alifáticos. Es de amplio espectro y presenta un alto poder sistémico, se ha usado en aplicaciones al tronco de árboles de manera exitosa para el control de diversas plagas (Fernandez de Córdova y Gallego, 1997) y tiene un potencial de movilidad xilemática aún mayor que el de los neonicotinoides (Byrne *et al.*, 2012). El mismo es efectivo contra plagas del tipo picador-suctor y masticadoras (Martin y Brown, 1984).

## **OBJETIVO**

Determinar la eficacia y residualidad de insecticidas de síntesis química sistémicos sobre el control de *T. peregrinus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en el invernáculo de Dasonomía, en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján, desde abril hasta junio del año 2015 (figura 5.5). Se evaluaron cuatro productos comerciales en una única dosis (*Tabla 5.2*) con cinco repeticiones de cada tratamiento y un testigo sin insecticida, mediante un diseño completamente aleatorizado.



**Figura 5.5.** Detalle del ensayo en invernáculo, campo experimental de la UNLu.

**Tabla 5.2.** Principios activos y dosis que se utilizaron en el estudio.

<b>Principio activo</b>	<b>Acefato</b>	<b>Acetamiprid</b>	<b>Imidacloprid</b>	<b>Tiametoxam</b>
<b>Formulación</b>	75% polvo soluble	20% polvo soluble	35% suspensión concentrada	25% gránulo dispersable
<b>Dosis</b>	75 g/hl	12,5 g/hl	55 ml/hl	30g/hl

Cinco plantas de *E. camaldulensis* por tratamiento, de aproximadamente dos años de edad en macetas de 10 litros, fueron regadas con 400 ml de cada caldo de aplicación y con 400 ml de agua en el tratamiento testigo. Las plantas tratadas se regaron solamente luego de la primera semana post tratamiento, para evitar el lixiviado del insecticida. Luego se regó y mantuvo la tierra de las macetas cerca a la capacidad de campo hasta finalizar los ensayos.

Los adultos de *T. peregrinus* utilizados en el ensayo fueron obtenidos de la cría en laboratorio en condiciones controladas de temperatura y humedad (24+/-2 °C, 60+/-2% HR, 12hs L: 12hs O). La misma se llevó a cabo a partir de huevos recogidos del campo experimental de la UNLu, los que fueron colocados en cajas de Petri para su eclosión, y posteriormente las ninfas colocadas sobre hojas de *E. camaldulensis* en jaulas de cría hasta su completo desarrollo.

#### **a) Eficacia**

Para cuantificar la eficacia de los insecticidas, pasadas 48 horas desde la aplicación, en cada árbol, se colocó una bolsa de voile de 10 cm x 20 cm (Fig. 5.6) envolviendo una rama con tres hojas, en la que se liberaron 10 adultos de *T. peregrinus*.

Al cabo de 48 horas se cortaron las ramas embolsadas y se realizó el recuento de individuos vivos y muertos, bajo lupa estereoscópica, para cada tratamiento y repetición.



**Figura 5.6.** Bolsa de voile.

## **b) Residualidad**

Para evaluar la persistencia de la acción de los productos, en cada árbol se realizaron reinfestaciones semanales. Se colocó una bolsa de voile de 10 cm x 20 cm envolviendo una rama con tres hojas, en la que se liberaron 10 adultos de *T. peregrinus*. Al cabo de 48 horas se cortaron las ramas embolsadas y se realizó el recuento de individuos vivos y muertos para cada tratamiento y repetición. Este procedimiento se repitió hasta que la mortalidad no presentó diferencias significativas con el testigo.

### c) Análisis de los datos

Con los datos obtenidos se calcularon los porcentajes de eficacia mediante la fórmula de Abbott (Abbott, 1925), y se sometieron los datos a análisis no paramétrico de Kruskal Wallis y test de comparación de medias de Tukey. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa Infostat/E v2012.

En el ensayo de residualidad, se realizó un análisis en cada fecha de reinfestación.

Fórmula de Abbott:

$$\text{Eficacia} = ( (Ca - Ta) / Ca )$$

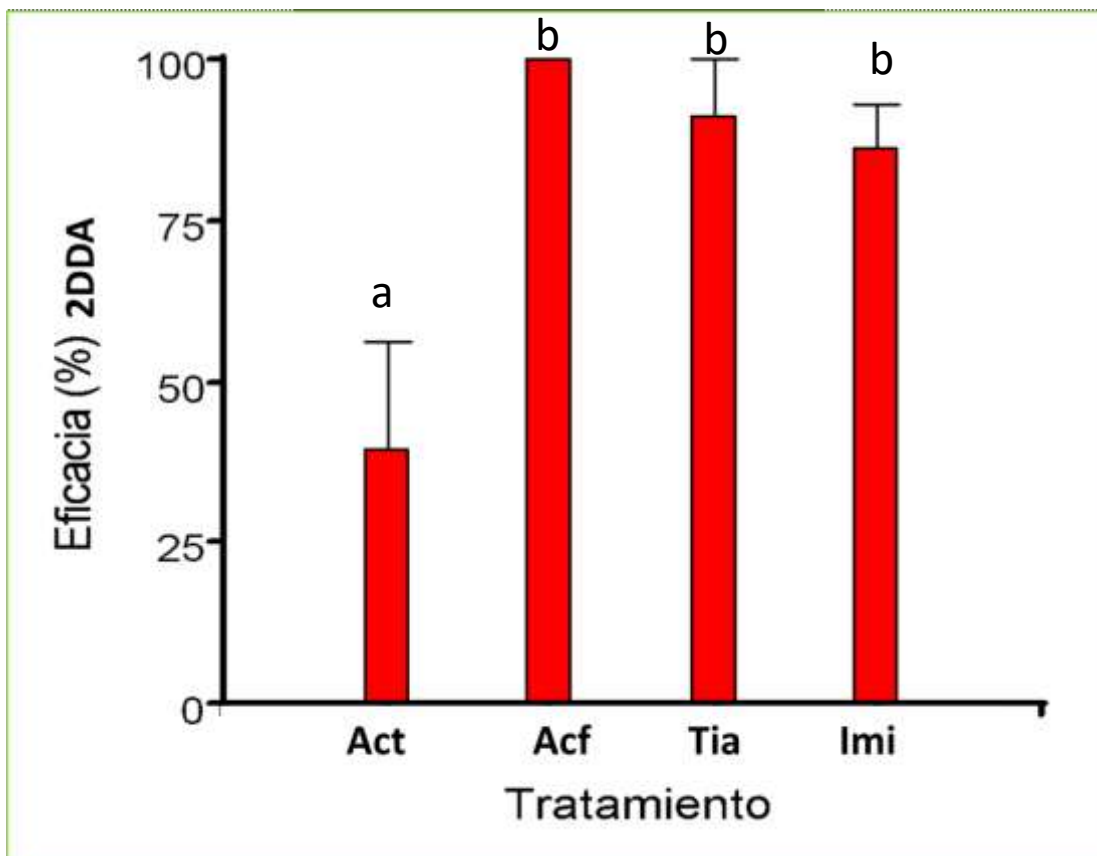
**Ca:** número de individuos vivos en el testigo post tratamiento

**Ta:** número de individuos vivos post tratamiento

## RESULTADOS

### a) Eficacia

Luego de 48 hs de aplicados los productos, no se registraron diferencias significativas entre los insecticidas de mayor eficacia, Acefato, Tiametoxam e Imidacloprid, a diferencia del Acetamiprid, que presentó el menor nivel de eficacia de control, con solo un 39,6 % (Fig. 5.7).



**Figura 5.7.** Porcentaje de eficacia de aplicación de los insecticidas en el primer recuento sobre adultos de *T. peregrinus*. DDA: Días después de aplicación; Act: Acetamiprid; Acf: Acefato; Tia: Tiametoxan; Imi: Imidacloprid.

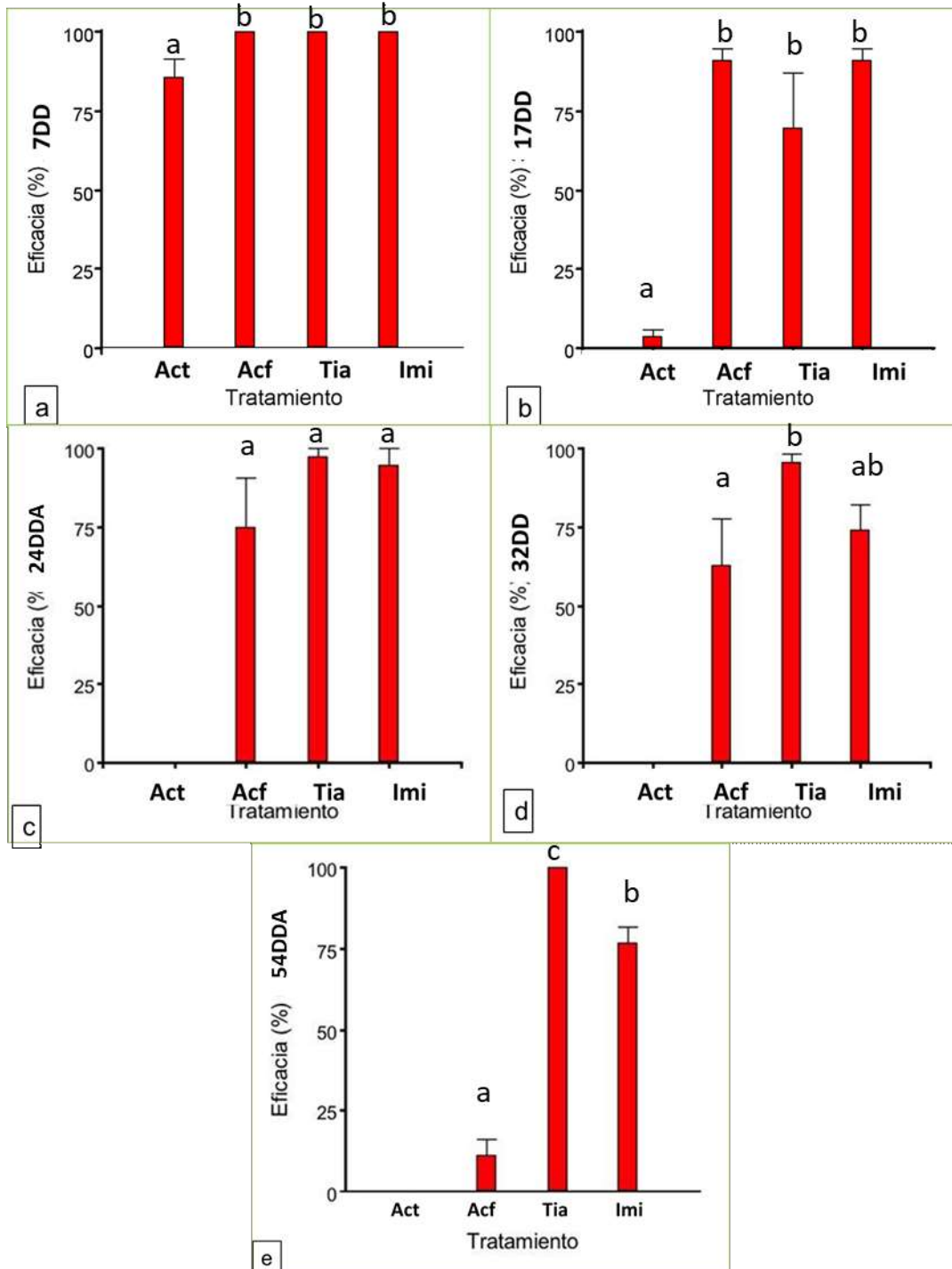
### b) Residualidad

En los primeros cuatro recuentos, no se registraron diferencias estadísticas significativas entre las aplicaciones de Acefato, Imidacloprid y Tiametoxam con eficacias entre 100% y 70% pero sí con Acetamiprid cuyo porcentaje de control más alto se obtuvo en el segundo recuento; siete días después de la aplicación de los insecticidas. Este fue del 86%, disminuyendo al 3% a los quince días. El Tiametoxam fue el insecticida

con mayor residualidad, alcanzando eficacias de control del 95% y 100%, aún treinta y cincuenta días después de la aplicación respectivamente (Tabla 5.3).

**Tabla 5.3.** Porcentaje de eficacia a los días después de la aplicación, test de comparación de medias de Tukey al 5%. Letras diferentes para una misma fecha en diferentes tratamientos indican diferencias significativas.

<b>Tratamiento</b>	<b>% Ef 2DD</b>	<b>% Ef 7DD</b>	<b>% Ef 17DD</b>	<b>%Ef 24DD</b>	<b>% Ef 32DD</b>	<b>% Ef 57DD</b>
Acetamiprid	39,60 a	85,80 a	3,60 a	--	--	--
Acefato	100 b	100 b	91,00 b	74,80 a	63,00 a	11,20 a
Imidacloprid	86,20 b	100 b	69,60 b	94,40 a	73,80 ab	76,60 b
Tiametoxam	91,00 b	100 b	91,00 b	97,20 a	95,60 b	100 c

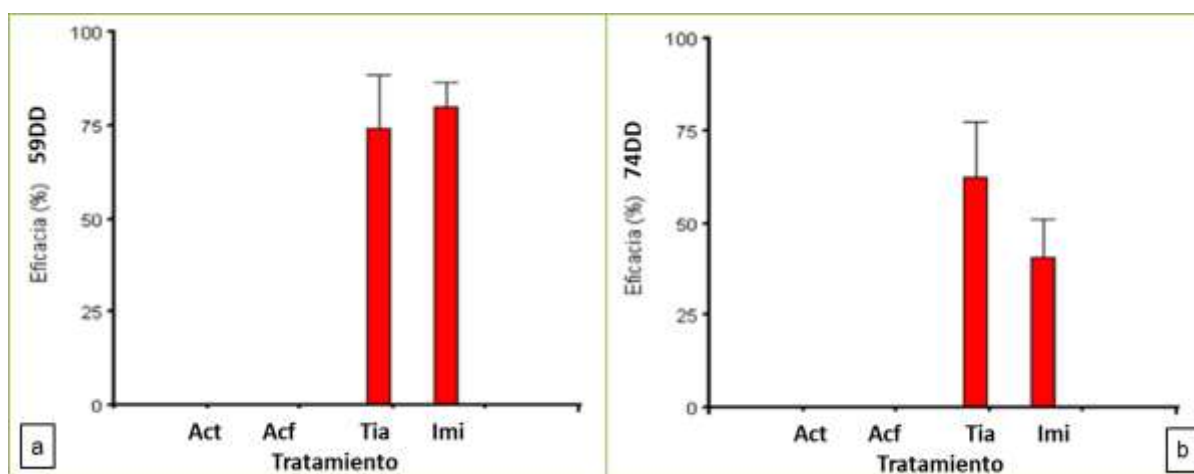


**Figura 5.8.** Residualidad medida como Porcentaje de eficacia de aplicación de los insecticidas a los, 7, 17, 24, 32 y 54 días Después de la aplicación (DDA) (a, b, c, d, e, f) sobre adultos de *T. peregrinus*.



A los 24 DDA (días desde aplicación) el Acetamidrid dejó de tener efecto sobre la plaga, mientras que el resto, si bien redujeron los niveles de eficacia, aún mostraban un efecto, sin mostrar diferencias significativas entre ellos. A los 32 DDA se encontraron diferencias significativas entre el de mejor control, el Tiametoxam, como el insecticida de mayor eficacia y el Acefato. A los 53 DDA el Acefato redujo considerablemente su eficacia, siendo este el último recuento en el que este insecticida provocó mortalidad de la plaga (Figura 5.8).

A los 59 DDA (Fig. 5.9a) los insecticidas que continuaron presentando una buena eficacia fueron Imidacloprid y Tiametoxam, sin diferencias significativas entre ambos, mayor al 75 %. A los 74 DDA, último recuento, (Fig. 5.9b) el Tiametoxam superó al Imidacloprid el cual redujo su eficacia por debajo del 50% aunque sin diferencias significativas.



**Figura 5.9.** Porcentaje de eficacia de aplicación de los insecticidas a los 59 y 74 DDA, (a, b) sobre adultos de *T. peregrinus*.

## DISCUSIÓN

Este ensayo fue diseñado para comparar la eficacia y residualidad de cuatro insecticidas sistémicos, recomendados para control de insectos fitosuccívoros en árboles y arbustos.

Durante los primeros cuatro recuentos (hasta 24 DDA) los insecticidas que mayor eficacia presentaron fueron Acefato, Imidacloprid y Tiametoxam, coincidiendo con lo reportado por diferentes autores. Udikeri *et al.* (2008) en ensayos de control con insecticidas químicos contra míridos en algodón, obtuvieron como insecticida de mayor eficacia al Acefato, comparándolo con Imidacloprid y Acetamiprid, que también tuvieron, aunque en menor medida, buena eficacia, a diferencia de otros insecticidas sistémicos. El Acefato presenta un alto poder sistémico (Fernandez de Cordova y Gallego, 1997) y tiene un potencial de movilidad xilemática mayor que el de los neonicotinoides (Byrne *et al.*, 2012), lo cual podría explicar los efectos similares a los neonicotinoides Imidacloprid y Tiametoxam y superior al Acetamiprid.

Imidacloprid y Tiametoxam presentaron una eficacia del 70 al 100% a los 7 DDA, en coincidencia con lo observado por Machado *et al.*, (2015) quienes, trabajando con dosis similares, obtuvieron eficacias del 100% durante los primeros recuentos a los 2 y 4 días post tratamiento en control químico de adultos de *T. peregrinus* con Imidacloprid y Tiametoxam.

Smitha y Pushpalatha (2014) obtuvieron un mayor nivel de eficacia con Tiametoxam comparado con Acetamiprid e Imidacloprid en el control de *Helopeltis antonii* Signoret (Miridae) en *Anacardium occidentale*.

El Acetamiprid presentó el mayor efecto sobre esta especie recién en el segundo recuento lo cual contrasta con lo reportado por distintos autores. Palumbo *et al.* (2001) en ensayos de control de *Bemisia tabaci* obtuvieron un mayor nivel de control con Acetamiprid que con Imidacloprid, esta diferencia puede deberse a la forma de

aplicación del insecticida. La alta solubilidad en agua del Acetamiprid (4250 mg /l a 25 C) permite una rápida absorción por el follaje, lo que conduce a una muy buena actividad translaminar y una distribución acrópeta a través del xilema en algodón. En comparación con el Imidacloprid, el Acetamiprid resultó más eficaz contra *B. tabaci* en algodón cuando se aplicó al follaje, y menos eficaz cuando se aplicó al suelo. Esto podría explicar el aumento de la eficacia de este insecticida en la segunda semana del tratamiento en el presente trabajo (Palumbo *et al.*, 2001).

Acetamiprid resultó ser el insecticida con menor residualidad de los utilizados, con una residualidad de 15 días post tratamiento. Estos resultados coinciden con lo presentado por diferentes autores. En ensayos con manzanos a campo para control de *Diaspidiotus perniciosus* (Hemiptera: Diaspididae) se registró residualidad de hasta 20 días post pulverización (Sazo *et al.*, 2016). Una posible explicación a este resultado podría ser que el mismo presenta baja persistencia en suelos a capacidad de campo y esto se acentúa más en condiciones de altas temperaturas y/o exposición a la luz solar (Gupta y Gajbhiye, 2007). Estos datos son coincidentes con los encontrados por Park *et al.*, 2011, quienes determinaron la baja residualidad de este insecticida, y su poca vida media en los tejidos en rápido crecimiento, no habiendo detectado residuos del insecticida a los 7 días post aplicación.

El Acefato presentó una eficacia mayor al 50% hasta el quinto recuento (32 DDA). Esto resulta coincidente con ensayos a campo de pulverización en limonero donde se registraron persistencias de hasta 25 días contra *Euseius stipulatus* (Mesostigmata: Phytoseiidae) con eficacias por encima del 50% (Bellows *et al.*, 1985), aunque la menor persistencia podría deberse a que en los mismos se expuso a las plantas a las condiciones ambientales y a que la aplicación fue foliar. En otros ensayos el Acefato presentó una vida media de 5-15 días en plantas y una persistencia menor en tejidos en activo crecimiento (Nigg *et al.*, 1981; Frank *et al.*, 1984).

Imidacloprid presentó en el ensayo una residualidad de hasta 8 semanas post-tratamiento, resultando junto al Tiametoxam uno de los insecticidas de mayor residualidad. Humeres *et al.*, (2009) reportaron en *Pseudacysta perseae* (Heteroptera: Tingidae) una residualidad del Imidacloprid de hasta 112 días post-tratamiento, siendo aplicado el insecticida a la tierra de la maceta junto con agua. En ensayos realizados para control de minador de los cítricos, *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae), en plantas jóvenes de naranja Valencia mediante aplicación al suelo, a campo, se logró mantener las plantas libre de plagas durante más de 120 días (Bertuzzi *et al.*, 2016).

El Tiametoxam fue el insecticida con mayor residualidad, alcanzando eficacias de control del 95% y 100%, aún treinta y cincuenta días después de la aplicación respectivamente. Smitha y Pushpalatha (2014) obtuvieron en control de *Helopeltis antonii signoret* (Hemiptera: Miridae), mediante pulverización, el mayor nivel de eficacia en todos los intervalos de medición (7, 15, 30 días) con el insecticida Tiametoxam superando al Acetamiprid y al Imidacloprid. En ensayos para control de mosca blanca en algodón se obtuvo un control significativo de mosca blanca hasta 40 días post aplicación del insecticida Tiametoxam en maceta (Torres y Ruberson, 2004), coincidiendo con lo obtenido en el presente trabajo.

## **Capítulo VI**

### **Consideraciones finales**

La introducción de especies en ambientes nuevos y el establecimiento de las mismas como especies invasoras es un problema en aumento, tanto en el número de especies establecidas fuera de su área natural, como en el creciente número de áreas afectadas (Vitousek *et al.*, 1996, Mack *et al.*, 2000, Sala *et al.*, 2000, Mooney, 2005). La teoría ecológica predice que una vez establecida, una especie invasora puede desarrollar explosiones poblacionales, debido a la ausencia de los controles naturales presentes en su zona de origen (Begon *et al.*, 2006). Dada la poca información que se posee acerca de *T. peregrinus*, existen al menos dos aspectos teóricos que pueden explorarse a partir de la información generada en este proyecto.

En primer lugar, existen evidencias de que la preferencia de oviposición por parte de las hembras de insectos herbívoros está positivamente correlacionada con el desempeño de los individuos de la siguiente generación (Jaenike, 1978; Thompson, 1994). En efecto, el éxito reproductivo depende de la supervivencia de la descendencia y está fuertemente moldeada por la selección natural pero, al mismo tiempo, está afectada por la forma en que los individuos perciben su ambiente a varios niveles jerárquicos (Hassell y Southwood, 1978). Sin embargo, y en segundo lugar, desviaciones de este supuesto abundan, y existen varias razones que pueden explicar esta falta de correlación. Puede ser por ejemplo, que la planta preferida sea rara en el nuevo hábitat, o sea una reciente introducción al hábitat o una planta hospedera recientemente colonizada por la especie (Thompson y Pellmyr, 1991). Otra explicación para la posible falta de correlación, puede ser analizada a la luz de la hipótesis del espacio libre de enemigos naturales (Jeffries y Lawton, 1984; Berdegué *et al.*, 1996). La información generada en esta tesis, permite poner a prueba estas hipótesis en el contexto de una especie invasora. Los resultados presentados aquí son relevantes, particularmente para ampliar el conocimiento de la biología y ecología de este insecto invasor en relación al manejo integrado de plagas forestales.

Medida a través de la supervivencia y el tiempo de desarrollo, *Thaumastocoris*

*peregrinus* muestra claras diferencias en su desempeño según la especie de *Eucalyptus* sobre la que se alimenta. Estas diferencias en el desempeño, se correlacionan perfectamente con la preferencia de alimentación del insecto, la cual es estrictamente lineal y sin ningún bucle en la jerarquía de preferencias. La correlación entre preferencia de alimentación y desempeño resulta claramente adaptativa y se han identificado los aceites esenciales probablemente responsables de la preferencia detectada, por un lado al atraer al insecto al hospedador y por otro lado un posible repelente. Es la combinación de ambos aceites esenciales la que parece mediar en la preferencia de alimentación. Resulta inesperado e interesante el encontrar una casi absoluta correlación entre el desempeño y la preferencia de alimentación, con la inexistente preferencia de oviposición.

El análisis de la oviposición, cuyos resultados son presentados en la Fig. 4.1 muestra la falta completa de linealidad y un promedio de 5,75 bucles (relaciones no lineales) para solo 6 especies ensayadas. Esta aparente falta de adaptación, puede ser explicada por varios mecanismos, algunos de los cuales ya fueron discutidos.

El tiempo de vida de los adultos, así como la baja capacidad sensorial pueden ser factores que afecten el proceso de selección en el proceso de oviposición. Aunque consistente con los resultados presentados en esta tesis, los adultos viven alrededor de 30 días, durante la mitad de los cuales las hembras son capaces de oviponer, por lo que no pareciera que la falta de tiempo para oviponer imponga un límite a la selectividad del insecto. Por otro lado, la baja capacidad sensorial, detectada a nivel del sistema olfativo, no implica la falta de capacidad de reconocimiento de un hospedador apropiado: cuando se le permite el acceso directo, el insecto reconoce y selecciona los mejores hospedadores desde el punto de vista de su futuro desempeño.

No es posible experimentar aquí con idéntico rango de especies de Eucaliptos hospedadores que en su lugar de origen, lo que resulta evidente con sólo consultar la bibliografía, ya que aquí el espectro de hospedadores disponibles es mucho más

restringido. Tampoco es posible indagar acerca del espacio libre de enemigos naturales, dada la reciente liberación de los mismos en Argentina, cuyos resultados además no han sido evaluados, si bien se han detectado algunas especies que han comenzado a incorporar a *T. peregrinus* en sus dietas. Son éstas preguntas que quedarán abiertas a futuros proyectos de investigación sobre ésta especie.

Los resultados obtenidos en los estudios de comportamiento alimentario, permitieron analizar los mecanismos de selección del insecto, los cuales sugieren que el sentido del olfato no parece jugar un papel relevante en el proceso de selección de hospedador. Sin embargo, cuando se evaluaron los insectos en el ensayo de respuesta alimentaria donde podían acceder al material vegetal, en todos los casos se registró una fuerte preferencia de alimentación.

Es interesante destacar aquí que, si bien los resultados de laboratorio son claros y muestran que algunas especies no son activamente seleccionadas, la presencia del insecto sobre estas especies ha sido detectada en el campo. Por ejemplo, en el caso de la comparación entre *E. cinerea* y *E. globulus* el insecto no seleccionó a ninguna de las dos especies. En el campo los árboles de *E. cinerea* no presentan daños ni presencia física del insecto sobre sus copas, aunque en algunos ejemplares de *E. globulus* es posible encontrarlos.

Los resultados presentados en esta tesis constituyen también el primer estudio que muestra evidencia contundente de que este insecto se alimenta del mesófilo. Toda la evidencia macroscópica es consistente con la eliminación de cloroplastos en el clorénquima en empalizada, esto genera la pérdida de superficie fotosintética en las hojas relacionada con el daño por alimentación, lo que seguramente se traduce en una menor tasa de crecimiento. El producto de los estudios que se llevaron a cabo, muestra claramente que la actividad de alimentación ocurre en las células subepidérmicas, a pesar de la presunción, hecha por varios autores que la consideraron como una especie fitosuccívora, alimentándose de fotoasimilados.



En suma, las conclusiones a las que se arribó y que se exponen sobre el comportamiento alimentario resultan novedosas e importantes en varios aspectos de la biología de esta especie, aspectos que eran desconocidos y confusos en la bibliografía. El sentido del olfato no influye de manera significativa en la selección de la planta hospedadora. *T. peregrinus* necesita contacto físico directo con la planta para decidir aceptarla. También resulta claro que esta especie no se alimenta lacerando y succionando, ni tampoco desde los haces vasculares, siendo el sitio de alimentación el parénquima en empalizada. Conocer cómo *T. peregrinus* utiliza el recurso alimenticio es un aspecto importante de su biología y es relevante para comprender mejor los mecanismos implicados en los daños observados y para elegir el método de control químico más apropiado, dependiendo de su comportamiento en la planta.

En este trabajo de tesis, se determinó asimismo una muy marcada preferencia de *T. peregrinus* sobre las hojas adultas de todas las especies de *Eucalyptus* ensayadas. Otro hallazgo importante es el casi total rechazo de hojas jóvenes como fuente de alimentación, con la única excepción de *E. viminalis* y *E. grandis*. Aún si el único recurso fuera un árbol joven, no sería utilizado como fuente de alimentación. Es de esperar entonces que en la mayoría de las especies de *Eucalyptus*, las hojas jóvenes tengan características particulares, que les permitan tener menor susceptibilidad a determinadas plagas, favoreciendo así la supervivencia de los árboles jóvenes, como es lo que ocurre con *T. peregrinus*. Éste es un resultado también relevante dado que, al menos para las especies más importantes de Argentina, no es esperable daño importante en plantas jóvenes de vivero.

Otro resultado importante de esta tesis, es la relación entre el perfil de aceites esenciales de cada especie con la preferencia de alimentación. Los resultados indican que el compuesto *1.8-cineol* actúa como compuesto repelente mientras que el *p-cimeno* sería un fagoestimulante.

En relación a la elección de sitio para oviponer, las hembras de *T. peregrinus* no

mostraron una preferencia de oviposición definida y por lo tanto el desempeño de la descendencia aparece desacoplado de la preferencia de oviposición, aunque no así con la de alimentación.

Por un lado, el insecto puede tener poca capacidad para identificar su hospedador a la distancia o baja capacidad de vuelo. Esto puede ser compatible con una baja presión de selección por estas características, debido a la dispersión de diferentes hospedadores adecuados en su lugar de origen. Por otro lado, las plantas hospederas presentes en Argentina no son las mismas que las de su lugar de origen, por lo que su periodo de adaptación a los nuevos hospedantes no está resuelto aún en el territorio nuevo. Por último, los resultados son compatibles con la teoría del espacio libre de enemigos naturales. En este sentido, al no existir selectividad por hospedadores para oviposición, a diferencia de la alta selectividad para alimentación, este mecanismo puede actuar disminuyendo el parasitoidismo al dispersar el esfuerzo reproductivo y dificultando el aprendizaje en el proceso de búsqueda por parte del enemigo natural. Esto es relevante, ya que las hembras de *T. peregrinus* utilizan un amplio espectro de hospedadores de Eucaliptos y no presentan preferencia, ya que todas las especies ofrecidas fueron utilizadas de una u otra manera como sitios de oviposición.

Esto puede además, estar influenciado por la edad de las hembras. Cuando las hospedadoras de mayor calidad son raras o están ausentes, las hembras podrían ovipositar sobre otras especies menos favorables al acortarse su tiempo de vida. De esta manera, la experiencia previa puede aumentar la aceptabilidad de un hospedador aun cuando el desempeño sobre el mismo no sea el óptimo. Varios mecanismos pueden favorecer a los individuos que prefieren las especies hospedadoras más abundantes, al ser más probable que las hayan experimentado en el pasado. Dado que las especies más abundantes son encontradas más frecuentemente, el aprendizaje puede conducir a una mayor preferencia por estas especies, sin tener en cuenta las preferencias o el desempeño de la descendencia, e ignorar cualquier especie de mayor calidad si es poco común, o incluso rara. La inconsistencia encontrada entre el desempeño y la preferencia

de oviposición puede obedecer a diversas causas. Thompson (1994) propone que además de la hipótesis del tiempo insuficiente para la adaptación, y la hipótesis de espacio libre de enemigos mencionadas más arriba, el desempeño puede verse influenciado por las características de la planta, además de los efectos de la edad, la densidad de población local o la variabilidad en la abundancia del hospedante.

Los resultados de esta tesis muestran que el desempeño de las ninfas en las diversas especies de *Eucalyptus* fue diferente. Se encontró una estrecha relación entre el desarrollo y la supervivencia de las ninfas, y la preferencia de alimentación. El desempeño de *T. peregrinus* en *E. viminalis* fue superior al obtenido en las otras especies ensayadas. Por otro lado *E. globulus* demostró ser un alimento subóptimo para las ninfas de *T. peregrinus*, con tasas de mortalidad más altas, particularmente en los primeros estadios, no pudiendo completar su ciclo de vida sobre esta especie. Estos resultados conciden claramente con los resultados de la preferencia estrictamente lineal de alimentación.

En este trabajo de tesis doctoral se pudieron determinar resultados consistentes con las observaciones a campo de la densidad y daño de insectos, donde *E. viminalis*, *E. grandis*, y *E. tereticornis* son las especies preferidas, mientras que las especies menos preferidas o sobre las cuales el desempeño es menor, tienen menores densidades de insectos y daños.

Finalmente, como producto de la realización de esta tesis se proporcionó el primer registro de predadores nativos alimentándose de *T. peregrinus* en Argentina que indican claramente que la chinche comenzó a integrarse en la estructura trófica local en Eucalipto en su nuevo rango adoptado. Esta información mejora la comprensión de las interacciones entre predadores nativos e insectos exóticos, por lo que será útil para el diseño de un programa de manejo integrado de esta especie.

En esta tesis se compararon además, la eficacia y residualidad de cuatro insecticidas sistémicos, recomendados para control de insectos fitosuccívoros en árboles y arbustos. Se pudo concluir que existe un control diferencial de la chinche del *Eucalyptus*, según los diferentes principios activos de los insecticidas aplicados para su control. Tiametoxam e Imidacloprid fueron los insecticidas que mayor residualidad y eficacia presentaron a lo largo del ensayo. Acefato tuvo un alto nivel de control de la plaga pero su eficacia disminuyó y su residualidad llegó hasta 32 días después de la aplicación. Por su parte, el Acetamiprid presentó el mayor nivel de eficacia recién a los 7 días, pero se registró control de la plaga solo hasta el día 17 resultando el insecticida de menor residualidad.

Finalmente, el Manejo Integrado de Plagas (MIP) se basa en la combinación de tácticas de control con el menor impacto posible en los agro ecosistemas, donde las plagas son consideradas parte integrante de una red trófica y prestando particular atención a la presencia de sus enemigos naturales, principales elementos del sistema para controlarlas. Un ecosistema forestal bajo MIP promoverá a su vez varios de los servicios ecosistémicos que ofrece la naturaleza, tales como la provisión de aire y agua limpios, el mantenimiento de la biodiversidad, el control biológico de plagas, malezas y enfermedades, entre otros (Fiedler *et al.*, 2008). Brevemente, las estrategias de control que contempla el MIP son: el *control biológico*, (uso de enemigos naturales, tanto nativos como introducidos) el *uso de técnicas culturales* (raleos y poda, un bosque bien manejado, etc.), la utilización de *variedades resistentes* (*E. globulus* o *E. maidenii*), el *control químico* usando insecticidas racionales, selectivos y biodegradables. Esta tesis presenta resultados necesarios para el desarrollo de una combinación de tácticas que permita reducir el impacto que tiene esta plaga sobre la producción de *Eucalyptus*.

Una consideración adicional relevante, es la de los efectos de la paulatina integración de esta especie invasora a la red trófica local. La introducción de esta especie, sobre todo a las muy altas densidades observadas en los primeros estadios de la invasión, ha probablemente tenido importantes efectos en las distintas especies de

Eucalipto hospedadoras, efectos que son diferenciales según las preferencias de alimentación estudiadas en esta tesis. También son relevantes los efectos en su propio nivel trófico por competencia con otras especies de insectos herbívoros que se alimentan de Eucalipto, efectos que se extenderán hacia niveles superiores de la red trófica sobre las poblaciones de distintos predadores.

Es esperable que la influencia de una especie se ramifique en distintas direcciones en la red trófica. Así, los efectos de esta especie serán sobre las especies hospedadoras, foco de esta tesis, pero también otras especies de herbívoros a través de competencia directa, o mediada a través de la planta hospedadora debida a posibles cambios fisiológicos inducidos por el insecto, incluyendo mecanismos de defensa. A su vez, estos efectos, se propagarán a través de la red trófica hacia los depredadores de cada una de las especies de herbívoros involucradas, lo cual puede a su vez, alterar las relaciones de competencia entre ellos. Además, la información provista en el Capítulo V de esta tesis, indica que *T. peregrinus* está siendo incluida en las dietas de diversos insectos depredadores en muchas de las regiones del mundo donde se la ha introducido.

Si bien el estudio de estos efectos bottom-up y top-down queda fuera de los objetivos de esta tesis, es importante señalar que las consecuencias de la introducción de esta especie no se limitarán a las distintas especies de Eucalipto hospedadoras, sino que tendrá ramificaciones que se extenderán por la red trófica local.

# Bibliografía

- Abbott, W. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18:265-267.
- Alitonou, G.; Avlessi, F.; Wotto, V.; Ahoussi, E.; Dangou, J. y Sohounhloúé, D. 2004.** Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle de *Eucalyptus tereticornis* Sm. *Comptes Rendus Chimie*. 7:1051–1055.
- Alzogaray, R.; Lucia, A.; Zerba, E. y Masuh, H. 2011.** Insecticidal activity of essential oils from eleven *Eucalyptus* spp and two hybrids: lethal and sublethal effects of their major components on *Blattella germanica*. *Journal of Economic Entomology*. 104:595-600.
- Ambrose, M. 2003.** Characterization of the insecticidal properties of acetamiprid under field and laboratory conditions. Tesis MS. North Carolina State University. 71 pp.
- Andrei, E. 2005.** Compêndio de defensivos agrícolas. 7 ed. São Paulo: Organizações. 1141 p.
- Appleby, M. 1983.** The probability of linearity in hierarchies. *Animal Behaviour*. 31(2): 600-608.
- Aquino, D.; Andorno, A.; Patawer, P.; Botto, E. y López, S. 2018.** Primera cita de *Quadrastichus mendeli* (Hymenoptera, Eulophidae, Tetrastichinae) de Argentina, asociado a agallas de *Leptocybe invasa* (Hymenoptera, Eulophidae, Tetrastichinae). *Acta Zoológica Lillioana*. 62: 50-52.
- Araya, J.; Estay, P. y Araya, M. 2006.** Toxicity of abamectin, acetamiprid, imidacloprid, mineral oil and an industrial detergent with respect to *Encarsia formosa* (Gahan) parasitizing *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) nymphs. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 4(1): 1-5.
- Aukema, J. E., Leung, B., Kovacs, K., Chivers, C., Britton, K. O., Englin, J., y McCullough, D. G. 2011.** Economic impacts of non-native forest insects in the continental United States. *PLoS One*. 6(9): e24587.
- Awmack, C. y Leather, S. 2002.** Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*. 47(1): 817-844.

- Backus, E. 1988.** Sensory systems and behaviours which mediate hemipteran plant-feeding: a taxonomic overview. *Journal of Insect Physiology* . 34 (3): 151–165.
- Backus, E.; Cline, A.; Ellerseick, M. y Serrano, M. 2007.** *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) feeding on cotton: new methods and parameters for analysis of nonsequential electrical penetration graph data. *Annals of the Entomological Society of America*. 100 (2): 296-310.
- Backus, E.; Serrano; M. y Ranger, M. 2005.** Mechanisms of hopperburn: an overview of insect taxonomy, behavior, and physiology. *Annual Review of Entomology*. 50: 125-151.
- Baker, P.; Ratcliffe, R. y Steinhauer, A. 1981.** Tolerance to hairy chinch bug feeding in Kentucky bluegrass. *Environmental Entomology*. 10(2): 153-157.
- Baraño, J.; Craig, E. y Cucciifo, E. 2005.** *Eucalyptus*, Dasonomía. Material didáctico asignatura Dasonomía. Departamento de Tecnología, Universidad nacional de Luján.
- Barbosa, L.; Rodrigues, Â.; Soler, L.; Fernandes, B.; Castro, B.; Wilcken, C. y Zanuncio, J. 2017.** Establishment in the field of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an exotic egg parasitoid of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). *Florida Entomologist*. 100(2): 372-374.
- Behmer, S. 2009.** Animal behaviour: feeding the superorganism. *Current Biology*. 19(9): 366-368.
- Beale, I. y Ortiz, E. 2013.** Revista de divulgación técnica Agrícola y Agroindustrial. UNCa. 41: 1-2
- Begon, M.; Townsend, C. y Harper, J. 2006.** Ecology. From individuals to ecosystems. Blackwell Publishing Ltd (USA). 738 pp.
- Bellows, T.; Morse, J.; Hadjimetriou, D. y Iwata, Y. 1985.** Residual toxicity of four insecticides used for control of citrus thrips (Thysanoptera: Thripidae) on three beneficial species in a citrus agroecosystem. *Journal of Economic Entomology*. 78(3): 681-686.



- Berdegue, M.; Trumble, J.; Hare, J. y Redak, R. 1996.** Is it enemy-free space? The evidence for terrestrial insects and freshwater arthropods. *Ecological Entomology*. 21(3): 203-217.
- Berenbaum, M. 1995.** The chemistry of defense: Theory and practice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 92: 2-8.
- Bernays, E. 2001.** Neural limitations in phytophagous insects: implications for diet breadth and evolution of host affiliation. *Annual Review of Entomology*. 46(1): 703-727.
- Bernays, E. y Chapman, R. 1994.** *Behavior: the process of host-plant selection*. Chapman & Hall, New York. Pp.95-165.
- Bertuzzi, S.; Silvia, M.; Rodríguez, V.; y Mazza, S. 2016.** Control del minador de las hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*) en plantas jóvenes de Naranja Valencia. *Agrotecnia*. 8: 14-17.
- Byrne, F.; Urena, A.; Robinson, L.; Krieger, R.; Docola, J. y Morse, J. 2012.** Evaluation of neonicotinoid, organophosphate and avermectin trunk injections for the management of avocado thrips in California avocado groves. *Pest Management Science*. 68(5): 811-817.
- Bethke, J.; Blua, M. y Redak, R. 2001.** Effect of selected insecticides on *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae) and transmission of oleander leaf scorch in a greenhouse study. *Journal of Economic Entomology*. 94(5):1031-1036.
- Bossou A.; Mangelinckx, S.; Yedomonhan, H.; Boko, P.; Akogbeto, M.; De Kimpe, N.; Avlessi, F. y Sohounhloue, D. 2013.** Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasites and Vectors*. 6:337-347.
- Botto, E.; Aquino, D.; Loíacono, M.; Pathauer, P. y Briano, A. 2010.** Presencia de *Leptocybe invasa* Fischer & LaSalle (Hymenoptera: Eulophidae), la “avispa de la agalla deleucalipto”, en Argentina. *Boletín MIP Manejo Integrado de Plagas*. IMYZA, INTA.

- Bouvet, J.; Harrand, L. y Burckhardt, D. 2005.** Primera cita de *Blastopsylla occidentalis* y *Glycaspis brimblecombei* (Hemiptera:Psyllidae) para la República Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. 64: 99-102.
- Boyd, R. y Silk J. 1983.** A method for assigning cardinal dominance ranks. Animal Behaviour. 31(1): 45-58.
- Brentassi, M.; Catalano, M.; Paradell, S. y de Remes Lenicov, A. 2010.** Daños producidos por una nueva especie de tiflocibino en el área núcleo maicera de la Argentina (Hemiptera: Cicadellidae: Typhlocybinae). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. 69: 1-2.
- Brophy, J. y Southwell, I. 2002.** Eucalyptus chemistry, pp. 102–160, en J. J. W. Coppen (ed.). Eucalyptus: The Genus Eucalyptus. Taylor & Francis, London and New York.
- Buchholz, A. y Nauen, R. 2002.** Translocation and translaminar bioavailability of two neonicotinoid insecticides after foliar application to cabbage and cotton. Pest Management Science. 58(1): 10-16.
- Buntin G.; Braman, S.; Gilbertzand, D. y Phillips, D. 1996.** Chlorosis, photosynthesis, and transpiration of *Azalea* leaves after azalea lace bug (Heteroptera: Tingidae) feeding injury. Journal of Economic Entomology. 89: 990-995.
- Cadahia, D. 1980.** Proximidad de dos nuevos enemigos de los *Eucalyptus* en España. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas. 6(2): 165-192.
- Carpintero, D. y Dellapé, P. 2006.** A new species of *Thaumastocoris* Kirkaldy from Argentina (Heteroptera: Thaumastocoridae: Thaumastocorinae). Zootaxa. 1228:61-68.
- Carpintero, D. y De Biase, S. 2011.** Los Hemiptera Heteroptera de la Isla Martín García (Buenos Aires, Argentina). Historia Natural. 1(2): 27-47.
- Carreira, V.; Soto, I.; Mensch, J. y Fanara, J. 2011.** Genetic basis of wing morphogenesis in *Drosophila*: sexual dimorphism and non-allometric effects of shape variation. BMC developmental biology. 11(1): 32-45
- Carrión C.; Costa, M.; Martínez, D.; Mohr, C.; Humbeck, K. y Guiamet, J. 2013.** In vivo inhibition of cysteine proteases provides evidence for the involvement of

'senescence-associated vacuoles' in chloroplast protein degradation during dark-induced senescence of tobacco leaves. *Journal of Experimental Botany*. 64: 4967-4980.

**Carvalho, G. 2009.** Especies exóticas e invasiones biológicas. *Ciencia Ahora*. 23(12): 15-21.

**Cassis, G.; Schuh, R. y Brailovsky, H. 1999.** A review of *Onymocoris* (Heteroptera: Thaumastocoridae), with a new species, and notes on hosts and distributions of other thaumastocorid species. *Acta Societatis Zoologicae Bohemoslavica*. 63: 19-36.

**Castañé, C.; Arnó, J.; Gabarra, R. y Alomar, O. 2011.** Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biological Control*. 59:22-29.

**Castle, S.; Byrne, F.; Bi, J. y Toscano, N. 2005.** Spatial and temporal distribution of imidacloprid and thiamethoxam in citrus and impact on *Homalodisca coagulata* populations. *Pest Management Science*. 61(1): 75-84.

**Cavalca, P.; Lolis, M.; Reis, B. y Bonato, C. 2010.** Homeopathic and larvicide effect of *Eucalyptus cinerea* essential oil against *Aedes aegypti*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 53(4): 835-843.

**Cherret, J. 1986.** The economic importance and control of leaf-cutting ants. En *Economic Impact and Control of Social Insects*. S.B. Vinson (Ed.). Praegar Special Studies, USA

**Cherret, J. 1989.** Leaf-cutting ants, biogeographical and ecological studies. pp 473-488. En H Lieth and M Werger (eds). *Ecosystem of the world 14b, Tropical rain forest ecosystem*. Elsevier, New York, EEUU.

**Cichón, L.; Giayetto, A.; Fernández, D.; Garrido, S.; Gómez, R.; Muñoz, M e Ibarra, D. 2004.** Taladrillo de los forestales: algunos aspectos de su biología, detección y manejo de poblaciones. Centro Regional Patagonia Norte, EEA INTA Alto Valle de Río Negro (Eds.) 13 pp.

- Cillie, J. y Tribe, G. 1991.** A Method for Monitoring Egg Production by the Eucalyptus Borers *Phoracantha* spp. (Cerambycidae). Plant Protection Research Institute. South African Forestry Journal. 157.
- Cladera, J.; Vilardi, J.; Juri, M.; Paulin, L.; Giardini, M.; Cendra, P. y Lanzavecchia, S. 2014.** Genetics and biology of *Anastrepha fraterculus*: research supporting the use of the sterile insect technique (SIT) to control this pest in Argentina. BMC genetics. 15(2): 1471–2156.
- Colautti, R.; Ricciardi, A.; Grigorovich, I. y MacIsaac, H. 2004.** Is invasion success explained by the enemy release hypothesis?. Ecology Letters. 7(8): 721-733.
- Coscarón, M. y Martin-Park, A. 2011.** New data for Argentinian assassin bugs fauna (Hemiptera: Reduviidae: Harpactorinae). Munis Entomology & Zoology 6(2): 758-763.
- Coutinho-Abreu, I.; Forster, L.; Guda, T. y Ray, A. 2014.** Odorants for surveillance and control of the asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*). PLoS ONE. 9(10):109-236.
- Crawley, M. 1989.** Chance and Timing in biological invasions. En: Biological invasions: a global perspective. JA Drake, y col. Editores. pp. 407–423. John Wiley & Sons. New York. USA.
- Crist, T. y MacMahon, J. 1992.** Harvester ant foraging and shrub-steppe seeds: interactions of seed resources and seed use. Ecology. 73(5): 1768-1779.
- Cross, D. 2009.** The Parasitoids of *Thaumastocoris* spp. in the Sydney Region. Unpublished M.Sc. Thesis. Department of Food and Natural Resources. University of Sydney, Australia. 42pp.
- Cuello, E.; Andorno, A.; Hernández, C.; Dell' Arciprete, V. y Botto, E. 2014.** Primeros estudios sobre asociaciones tróficas de interés para la sanidad forestal en *Eucalyptus* spp. Revista de Sociedad Entomológica Argentina. 73:183-186.
- Cunningham, J.; West, S. y Wright, D. 1998.** Learning in the nectar foraging behaviour of *Helicoverpa armigera*. Ecological Entomology. 23(4): 363-369.
- Dagne, E, Bisrat, D.; Alemayehu, M. y Worku, T. 2000.** Essential oils of twelve *Eucalyptus* species from Ethiopia. Journal of Essential Oil Research. 12:467–470.

- David, H. A. 1988.** The method of paired comparisons. Charles Griffin. London, United Kingdom.
- Davis, M.A. 2009.** Invasion Biology. Oxford University Press. Oxford.
- Davis, M.; Grime, J. y Thompson, K. 2000.** Fluctuating resources in plant communities: a general theory of invasibility. *Journal of Ecology*. 88(3): 528-534.
- Deevey Jr, E. 1947.** Life tables for natural populations of animals. *The Quarterly Review of Biology*. 22(4): 283-314.
- Della Lucia, T. 2003.** Hormigas de importancia económica de la Región Neotropical. En: Fernandez, F. (Ed.). *Introducción a las hormigas de la Región Neotropical*. Bogotá: Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander Von Humbolt. pp 337-349.
- Dellapé, P.; Martínez, A. y Coscarón, M. 2003.** New distributional records for the Asopine Pentatomids in temperate South America. *Zootaxa*. 318: 1-16.
- Delrio, G.; Prota, R. y Uscidda, C. 1983.** Prove di comparazione di sostanze attrattive del *Dacus oleae* Gmelin. *Atti XII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia*. Roma. 1980: 361-368.
- Denno, R. y McClure, M. 1983.** Variability: a key to understanding plant-herbivore interactions. In: Denno RF, McClure MS, editors. *Variable plants and herbivores in natural and managed systems*. New York: Academic Press. p. 1–12.
- Denny, E. 2002.** 6 Distillation of eucalyptus leaf oils. In *Eucalyptus: The Genus Eucalyptus* (Vol. 22, pp. 161-180). Taylor and Francis London and New York.
- Dent D. 1995.** Integrated Pest Management. Chapman & Hall. London.
- Desurmont, G. A., Donoghue, M. J., Clement, W. L., y Agrawal, A. A. 2011.** Evolutionary history predicts plant defense against an invasive pest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(17): 7070-7074.
- Dethier, V. 1969.** Feeding behavior of the blowfly. *Advances in the study of behavior*. 2: 111-266.
- Dethier, V. 1980.** Evolution of receptor sensitivity to secondary plant substances with special reference to deterrents. *The American Naturalist*. 115(1): 45-66.

- Dethier, V. 1982.** Mechanism of host-plant recognition. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 31(1): 49-56.
- deVries, H. 1995.** An improved test of linearity in dominance hierarchies containing unknown or tied relationships. *Animal Behaviour*. 50: 1375–1389.
- deVries, H. 1998.** Finding a dominance order most consistent with a linear hierarchy: a new procedure and review. *Animal Behaviour*. 55(4): 827-843.
- deVries, H.; Stevens, J. y Vervaecke, J. 2006.** Measuring and testing the steepness of dominance hierarchies. *Animal Behaviour*. 71(3):585-592.
- Diodato L. y Venturini, M. 2007.** Presencia del “psílido del escudo”, Plaga del *Eucalyptus*, en Santiago del Estero, Argentina. Quebracho, Revista de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
- Di Rienzo, J.; Casanoves, F., Balzarini, M; Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C. W. 2014.** InfoStat versión 2014. InfoStat Group, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Doccola, J.; Ramasamy, I. y Castillo, P. 2005.** Erratum: Efficacy of Arborjet Viper microinjections in the management of hemlock woolly adelgid (*Adelges tsugae*). *Journal of Arboriculture*. 31: 203–206
- Doughty, R. 2000.** The *Eucalyptus*: a natural and commercial history of the gum tree. Johns Hopkins University Press. *Ecology*. 50: 910-911.
- Drake, J. y Lodge, D. 2004.** Effects of environmental variation on extinction and establishment. *Ecology Letters*. 7:26-30
- Drake, C. y Slater, J. 1957.** The phylogeny and systematics of the family Thaumastocoridae (Hemiptera: Heteroptera). *Annals of the Entomological Society of America*. 50: 353–370.
- Early, R.; Bradley, B.; Dukes, J.; Lawler, J.; Olden, J.; Blumenthal, D.; Gonzalez, P.; Grosholz, E.; Ibañez, I.; Miller, L. y Sorte, C. 2016.** Global threats from invasive alien species in the twenty-first century and national response capacities. *Nature Communications*. 7:12485.

- Edwards, P.; Wanjura, W. y Brown, W. 1993.** Selective herbivory by Christmas beetles in response to intraspecific variation in *Eucalyptus* terpenoids. *Oecologia*. 95(4): 551-557.
- Ehrlich, P. y Raven, P. 1964.** Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*. 18: 586–608.
- Elbert, A.; Hass, M.; Springer, B.; Thielert, W. y Nauen, R. 2008.** Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science*. 64(11): 1099-1105.
- Elton, C. 1958.** The ecology of invasions by animals and plants. Springer, Boston, MA.
- EPPO/ OEPP. 2005.** *Gonipterus gibberus* and *Gonipterus scutellatus*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. 1-3.
- Estanislau, A.; Barros, F.; Peña, A.; Santos, S.; Ferri, P. y Paula, J. 2001.** Composicao quimica e atividade antibacteriana dos óleos essenciaís de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. *Revista Brasileira de Farmacia*. 11:95–100.
- Fahey, J.; Zalcman, A. y Talalay, P. 2001.** The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*. 56(1): 5-51.
- Fanara, J.; Folguera, G.; Iriarte, P.; Mensch, J. y Hasson, E. 2006.** Genotype by environment interactions in viability and developmental time in populations of cactophilic *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology*. 19(3): 900-908.
- Fernandez de Córdoba, J. y Gallego, F. 1997.** Control de la cochinilla de la encina (*Asterolecanium ilicicola*, Targioni, 1892) mediante la inyección de insecticidas al tronco del árbol. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*. 23(4): 607-612.
- Fiedler, A.; Landis, D. y Wratten, S. 2008.** Maximizing ecosystem services from conservation biological control: the role of habitat management. *Biological control*. 45(2): 254-271.
- Forister, M. 2004.** Oviposition preference and larval performance within a diverging lineage of lycaenid butterflies. *Ecological Entomology*. 29(3): 264-272.

- Fowler, H. 1983.** Latitudinal gradients and diversity of the leaf-cutting ants (*Atta* and *Acromyrmex*) (Hymenoptera:Formicidae). *Revista de Biología Tropical*. 31:213-216.
- Frank, R., Ritcey, G., Braun, H. E., y McEwen, F. L. 1984.** Disappearance of acephate residues from beans, carrots, celery, lettuce, peppers, potatoes, strawberries, and tomatoes. *Journal of Economic Entomology*. 77(5): 1110-1115.
- Frazier, J. y Chyb, S. 1995.** Regulatory mechanisms in insect feeding (pp. 364-381). Springer, Boston, MA.
- Futuyma, D. y Keese, M. 1992.** Evolution and coevolution of plants and phytophagous arthropods. *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. Ecological and Evolutionary Processes*. 2: 440-475.
- Gandhi, K. y Herms, D. 2010.** Direct and indirect effects of alien insect herbivores on ecological processes and interactions in forests of eastern North America. *Biological Invasions*. 12(2): 389-405.
- Gao, Y. y Reitz, S. 2017.** Emerging themes in our understanding of species displacements. *Annual Review of Entomology*. 62:165-183
- García, A.; Figueiredo, E.; Valente, C.; Montserrat, V. y Branco, M. 2013.** First record of *Thaumastocoris peregrinus* in Portugal and of the neotropical predator *Hemerobius bolivari* in Europe. *Bulletin of Insectology*. 66: 251-256.
- Genovesi, P.; Carboneras, C.; Vilá, M. y Walton, P. 2014.** EU adopts innovative legislation on invasive species: a step towards a global response to biological invasions?. *Biological Invasion*. 17(5):1307-1311
- Gill, S.; Jefferson, D.; Reeser, R.; y Raupp, M. 1999.** Use of soil and trunk injection of systemic insecticides to control lace bug on hawthorn. *Journal of Arboriculture*. 25: 38-42.
- González, A.; Calvo, M.; Cal, V.; Hernández, V; Doño, F.; Alves , L.; Gamenara , D.; Rossini, R. y Martínez, G. 2012.** A male aggregation pheromone in the bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus* (Thaumastocoridae). *Psyche*. 2012: 1-7.



- Gross, C.; Whalen, M. y Andrew, M. 1991.** Seed selection and removal by ants in tropical savanna woodland in northern Australia. *Journal of Tropical Ecology*. 7: 99-112.
- Gupta, S. y Gajbhiye, V. 2007.** Persistence of acetamiprid in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 78(5): 349-352.
- Hänfling, B. 2007.** Understanding the establishment success of non-indigenous fishes: Lessons from population genetics. *Journal of Fish Biology* 71: 115–135.
- Hartley, S. y Jones, C. 1997.** Plant chemistry and herbivory: or why the world is green. *Plant Ecology*. 284–324.
- Hasan, F. y Ansari, M. S. 2011.** Toxic effects of neem-based insecticides on *Pieris brassicae* (Linn.). *Crop Protection*. 30(4): 502-507.
- Hassell, M. y Southwood, T. 1978.** Foraging strategies of insects. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 9(1): 75-98.
- Herms, D. y Mattson, W. 1992.** The dilemma of plants: to grow or defend. *The quarterly review of biology*. 67(3): 283-335
- Heiss, E. y Popov, Y. 2002.** Reconsideration of the systematic position of *Thaicorinae* with notes on fossil and extant Thaumastocoridae (Hemiptera: Heteroptera). *Polskie Pismo Entomologiczne* 71:247–259
- Hernández-Sánchez, G.; Sanz-Berzosa, I.; Casaña-Giner, V. y Primo-Yúfera, E. 2001.** Attractiveness for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae) of mango (*Mangifera indica*, cv. Tommy Atkins) airborne terpenes. *Journal of Applied Entomology*. 125(4): 189-192.
- Hill, L. 1988.** The identity and biology of *Baclozygum depressum* Bergroth (Hemiptera: Thaumastocoridae). *Journal of the Australian Entomological Society*. 27:37–42
- Hill, L. y Schaefer, C. 2000.** Palm bugs (Thaumastocoridae), pp 139-142. *In* Heteroptera of economic importance, (eds). C.W. Shaefer and A.R. Panizzi. CRC Press, Boca Raton.
- Hölldobler, B. y Wilson, E. 1990.** *The Ants*. Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts.

- Hopkins, R.; van Dam, N. y van Loon, J. 2009.** Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology*. 54: 57-86
- Huey, R.; Gilchrist, G.; Carlson, M.; Berrigan, D. y Serra, L. 2000.** Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science*. 287: 308-309.
- Hulme, P. 2009.** Trade, transport and trouble: managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology*. 46(1): 10-18.
- Humeres, E.; Morse, J.; Stouthamer, R.; Roltsch, W. y Hoddle, M. 2009.** Evaluation of natural enemies and insecticides for control of *Pseudacysta perseae* (Hemiptera: Tingidae) on avocados in Southern California. *Florida Entomologist*. 92(1): 35-42.
- Hunter, W. y Backus, E. 1989.** Mesophyll-Feeding by the potato leafhopper, *Empoasca fabae* (Homoptera: Cicadellidae): Results from electronic monitoring and thin-layer chromatography. *Environmental Entomology*. 18(3): 465-472.
- Ide, S., Ruiz, C.; Sandoval, C. y Valenzuela, J. 2011.** Detección de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) asociado a *Eucalyptus* spp. en Chile. *Bosque* 32: 309-313.
- Invernoz I. 2011.** Evaluación de la respuesta olfativa de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé, 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae) sobre tres especies de *Eucalyptus*. Trabajo Final de Integración. Universidad Nacional de Luján. Argentina
- Jacobs, D. y Nesar, S. 2005.** *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in South Africa, damaging to *Eucalyptus* trees: research in action. *South African Journal of Science*. 101: 233-236.
- Jackson, L.; van Noordwijk, M.; Bengtsson, J.; Foster, W.; Lipper, L.; Pulleman, M.; Said, M.; Snaddon, J. y Vodouhe, R. 2010.** Biodiversity and agricultural sustainability: from assessment to adaptive management. *Current opinion in environmental sustainability*. 2(1-2): 80-87.
- Jaenike, J. 1978.** On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical population biology*. 14: 350-356.

- Jeffries, M. y Lawton, J. H. 1984.** Enemy free space and the structure of ecological communities. *Biological Journal of the Linnean Society*. 23(4): 269-286.
- Jiménez-Quiroz, E.; Vanegas-Rico, J.; Morales-Martínez, O.; Lomeli-Flores, J. y Rodríguez-Leyva, E. 2016.** First record of the bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé 2006 (Hemiptera: Thaumastocoridae), in Mexico. *Journal of Agricultural and Urban Entomology*. 32(1): 35-39.
- Johnson-Cicalese, J.; Hurley, R.; Wolfe, G. y Funk, R. 1989.** Developing turfgrasses with improved resistance to billbugs. In *Proceedings of the 6th International Turfgrass Research Conference*, Japan Society of Turfgrass Science, c/o Shohucho-Kaikan, Tokyo.
- Johnson-Cicalese, J., Baxendale, F.; Riordan, T. y Heng-Moss, T. 1998.** Identification of mealybug (Homoptera:Pseudococcidae) resistant turf-type buffalograss germplasm. *Journal of Economic Entomology*. 91: 341-346.
- Johnson W. y Lyon, H. 1994.** Insects that feed on trees and shrubs. An Illustrated Practical Guide. 2nd ed. rev. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Juan, L., Lucia, A.; Zerba, E.; Harrand, L.; Marco, M. y Masuh, M. 2011.** Chemical composition and fumigant toxicity of the essential oils from 16 species of *Eucalyptus* against *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) adults. *Journal of Economic Entomology*. 104: 1087-1092.
- Kareiva, P. 1982.** Experimental and mathematical analyses of herbivore movement: quantifying the influence of plant spacing and quality on foraging discrimination. *Ecological Monographs*. 52(3): 261-282.
- Kirkaldy, G. 1908.** Memoir on a few heteropterous Hemiptera from Eastern Australia. *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*. 32:768–788
- Klocke, J.; Darlington, M. y Balandrin, M. 1987.** 1,8-Cineole (Eucalyptol), a mosquito feeding and ovipositional repellent from volatile oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae). *Journal of Chemical Ecology*. 13(12): 2131-41.
- Kogan, M. 1994.** Plant resistance in pest management. *Introduction to insect pest management*. 3: 73-118.

- Kogan, M. y Ortman, E. 1978.** Antixenosis—A new term proposed to define Painter's “nonpreference” modality of resistance. *Bulletin of the Entomological Society of America*. 24(2): 175-176.
- Kordan, B.; Kosewska, A.; Szumny,A.; Wawrzeńczyk, C. y Gabryś, B. 2013.** Effects of aromatic plant extracts and major terpenoids constituents on feeding activity of the horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic. *Polish Journal of Natural Sciences*. 28(1): 53-62.
- Kumar, R. 1964.** Anatomy and relationships of Thaumastocoridae (Hemiptera: Cimicoidea). *Journal Entomological Society of Queensland*. 3:48–51
- La Salle, J. 2005.** Biology of gall inducers and evolution of gall induction in Chalcidoidea (Hymenoptera: Eulophidae, Eurytomidae, Pteromalidae, Tanaostigmatidae, Torymidae) pp 507–537. En: Raman, A., Schaefer, C.W. &Withers, T.M. (eds). *Biology, ecology, and evolution of gall-Inducing arthropods*. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire, EEUU.
- Landau, H. 1951.** On dominance relations and the structure of animal societies: I. Effect of inherent characteristics. *The Bulletin of Mathematical Biophysics*. 13:1-19.
- Latombe, G.; Pyšek, P.; Jeschke, J.; Blackburn, T.; Bacher, S.; Capinha, C.; Costello, M.; Fernandez, M.; Gregory, R.; Hobern, D.; Hui, C.; Jetz, W.; Kumschick, S.; McGrannachan, C.; Pergl, J.; Roy, H.; Scalera, R.; Squires, Z.; y McGeoch, M. 2017.** A vision for global monitoring of biological invasions. *Biological Conservation*. 213: 295-308.
- Laudonia, S. y Sasso, R. 2012.** The bronze bug *Thaumastocoris peregrinus*: a new insect recorded in Italy, damaging to *Eucalyptus* trees. *Bulletin of Insectology*. 65: 89-93.
- Leiva, D. y de Vries, H. 2011.** Steepness: testing steepness of dominance hierarchies. by R. p. v. 0.2). R package version 0.2: <http://CRAN.R-project.org/package=steepness>.
- Li, H.; Madden, J. y Davies, N. 1994.** Variation in leaf oils of *Eucalyptus nitens* and *E. denticulata*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 22: 631-640

- Liebhold, A.; Brockerhoff, E.; Garrett, L.; Parke, J. y Britton, K. 2012.** Live plant imports: the major pathway for forest insect and pathogen invasions of the US. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 10(3): 135-143.
- Liebhold, A. y Tobin, P. 2008.** Population ecology of insect invasions and their management. *Annual review of entomology*. 53: 387-408
- Lin, N.; Huber, J. y LaSalle, J. 2007.** *The Australian genera of Mymaridae (Hymenoptera: Chalcidoidea)*. Magnolia Press. Auckland, New Zealand.
- Liu, Z.; Yu, M.; Li, X.; Wan, T. y Chu, S. 2011.** Repellent activity of eight essential oils of chinese medicinal herbs to *Blattella germanica* L. *Records of Natural Products*. 5: 176-183.
- Lockwood, J.; Cassey, P. y Blackburn, T. 2005.** The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology and Evolution*. 20: 223–228.
- Lowe, S.; Browne, M.; Boudjelas, S. y De Poorter, M. 2000.** 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database (Vol. 12). Auckland: Invasive Species Specialist Group.
- Lucia, A.; Licastro, S.; Zerba, E. y Masuh, H. 2008.** Yield, chemical composition and bioactivity of essential oils from twelve species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* (L.) larvae (Diptera: Culicidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 129: 107–114.
- Lucia, A.; Naspì, C.; Zerba, E y Masuh, H. 2016.** Infestation of *Glycaspis brimblecombei* Moore on thirteen *Eucalyptus* species and their relationship with the chemical composition of essential oils. *Journal of Insect*. Vol 2016, 7 pages. DOI: 10.1155/2016/6340579
- Lucia, A.; Gonzalez Audino, P.; Seccaini, E.; Licastro, S.; Zerba, E. y Masuh, E. 2007.** Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 23: 299–303.

- Lucia, A.; Licastro, S.; Zerba, E.; González Audino, P. y Masuh, H. 2009.** Sensitivity of *Aedes aegypti* adults (Diptera: Culicidae) to the vapors of *Eucalyptus* essential oils. *Bioresource Technol.* 100: 6083-6087.
- Lucia, A.; Juan, L.; Zerba, E.; Harrand, L.; Marcó, M. y Masuh, H. 2012.** Validation of models to estimate the fumigant and larvicidal activity of *Eucalyptus* essential oils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research.* 110: 1675-1686.
- Lugemwa, F.; Wande, W.; Bentley, M.; Mendel, M. y Alford, R. 1989.** Volatiles of wild blueberry, *Vacciniu mangustifolium*: possible attractants for the blueberry maggot fruit fly, *Rhagoletis mendax*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 37: 232-233.
- Machado D.; Costa E.; Garlet J.; Boscardin J.; Pedron L.; Perini C. y Bolzan L. 2015.** Avaliação de Inseticidas no Controle de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) Percevejo-bronzeado em Condições de Laboratório. Universidade Federal de Santa Maria UFSM, Cidade Universitária, Camobi, CEP 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil.
- Mack, R.; Simberloff, D.; Mark Lonsdale, W.; Evans, H.; Clout, M. y Bazzaz, F. 2000.** Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications.* 10(3): 689-710.
- Maienfisch, P.; Angst, M.; Brandl, F.; Fischer, W.; Hofer, D.; Kayser, H. y Widmer, H. 2001.** Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest Management Science.* 57(10): 906-913
- Mansilla Vázquez, P.; Pérez Otero, R.; Ruiz Fernández, F. y Salinero Corral, C. 1999.** *Boletín Sanidad Vegetal Plagas.* 25:512-522.
- Mapondera, T.; Burgess, T.; Matsuki, M. y Oberprieler, R. 2012.** Identification and molecular phylogenetics of the cryptic species of the *Gonipterus scutellatus* complex (Coleoptera: Curculionidae: Gonipterini). *Australian Journal of Entomology.* 51: 175-188.

- Marelli, C. 1927.** El gorgojo de los eucaliptos hallado en la Argentina no es la especie originaria de Tasmania "*Gonipterus scutellatus*" Gyll. Revista del Museo de La Plata. 30: 257-269.
- Martin, W. y Brown, T. 1984.** La acción del acefato en *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) y *Pristhesancus papuensis* (Hemiptera: Reduviidae). Entomologia Experimentalis et Applicata. 35(1): 3-9
- Martínez, G. y Bianchi, M. 2010.** Primer registro para Uruguay de la chinche del eucalipto, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae). Agrociencia. 14: 15-18.
- Martínez, G.; Finozzi, M.; Cantero, G.; Soler, R.; Dicke, M. y González, A. 2017.** Oviposition preference but not adult feeding preference matches with offspring performance in the bronze bug *Thaumastocoris peregrinus*. Entomologia Experimentalis et Applicata. 163(1): 101-111.
- Martínez, C.; Riquelme, M.; Santadino, M.; Haro, A. y Barañao, J. 2015.** Estudios sobre el comportamiento de forrajeo de *Acromyrmex lundii* Guering (Hymenoptera, Formicidae) y su efecto sobre el crecimiento de procedencias de *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae). Revista Árvore. 39(1): 189-198.
- Martinez, G. 2008.** *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Delappé, 2005 (Heteroptera: Thaumastocoridae): new pest found in eucalyptus in Uruguay. p. 32–33. In: IUFRO Recent Advances in Forest Entomology, Pretoria, South Africa.
- Martinez, G.; Lopez, L.; Cantero, G.; Gonzalez, A. y Dicke, M. 2014.** Life-history analysis of *Thaumastocoris peregrinus* in a newly designed mass rearing strategy. Bulletin of Insectology. 67(2): 199-205.
- Martins, C. y Zarbin, P. 2013.** Volatile organic compounds of conspecific-damaged *Eucalyptus benthamii* influence responses of mated females of *Thaumastocoris peregrinus*. Journal of Chemical Ecology. 39(5): 602-611.
- Mateu-Sanchez, M.; Moreno, M.; Arrebola, F. y Martinez Vidal, J. 2003.** Analysis of acetamiprid in vegetables using gas chromatography-tandem mass spectrometry. Analytical Sciences. 19(5): 701-704.

- Mathen, K.; Radhakrishnan Nair, C.; Gunasekharan, M.; Govindankutty, M. y Solomon, J. 1988.** Stylet course of lace bug *Stephanitis typica* (Distant) in coconut leaf. Proceedings of Animal Sciences. 97: 533-544.
- Matsuki, M., Foley, W. y Floyd, R. 2011.** Role of volatile and non-volatile plant secondary metabolites in host tree selection by Christmas beetles. Journal of Chemical Ecology. 37(3): 286.
- May, R. y McLean, A. 2007.** Theoretical ecology: principles and applications. Oxford University Press on Demand.
- Mayhew, P. 1998.** Testing the preference-performance hypothesis in phytophagous insects: lessons from chrysanthemum leafminer (Diptera: Agromyzidae). Environmental Entomology. 27: 45-52.
- McArthur, C.; Loney, P.; Davies, N. y Jordan, G. 2010.** Early ontogenetic trajectories vary among defence chemicals in seedlings of a fast-growing eucalypt. Austral Ecology. 35: 157-16.
- McCullough, D.; Smitley, D y Poland, T. 2004.** Evaluation of insecticides to control emerald ash borer adults and larvae. Forest Health Technology Enterprise Team. 27-28.
- Medeiros de Souza, N.; Junqueira, L.; Wilcken, C.; Soliman, E.; Bueno de Camargo, M.; Nickele, M. y Rodriguez Balbosa, L. 2016.** Ressurgencia de uma antiga ameaca: Gorgulho-do-eucalipto *Gonipterus platensis* (Coleoptera: Curculionidae). Circular Técnica IPEF 209 20p.
- Melo, M.; Dellapé, P.; Carpintero, D. y Coscarón, M. 2004.** Reduviidae, Miridae, y Lygaeoidea (Hemiptera) recolectados en Colonia Carlos Pellegrini (Esteros del Iberá, Corrientes, Argentina). Revista de la Sociedad Entomológica Argentina. 63(1-2): 59-67.
- Melo, M., Dellapé, P.; Carpintero, D. y Montemayor, S. 2011.** Heteroptera (Hemiptera) from the Chaco National Park (Argentina). Zootaxa. 2999: 1-19.



- Mendel, Z.; Protasov, A.; Fischer, N. y La Salle, J. 2004.** Taxonomy and Biology of *Leptocybe invasa* gen. & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on Eucalyptus. Australian Journal of Entomology. 43: 101-113.
- Merchant, A.; Tausz, M.; Arndt, S. y Adams, M. 2006.** Cyclitols and carbohydrates in leaves and roots of 13 *Eucalyptus* species suggest contrasting physiological responses to water deficit. Plant, Cell and Environment. 29(11): 2017-2029.
- Metcalf, R. y Luckmann, W. 1994.** Introduction to insect pest management. John Wiley & Sons (eds). New York. USA.
- Metcalf, R. y Metcalf, E. 1992.** Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall Ltd. London.
- Miles, P. 1968.** Insect secretions in plants. Annual Review of Phytopathology. 6: 137-164.
- Miles, P. 1972.** The saliva of Hemiptera. Advances in Insect Physiology. 9: 183-255.
- Mizrahi, I.; Traverso, I.; Juarez, M.; Bandoni, A.; Muschietti, L. y Van Baren, C. 1997.** Composition of the essential oil of *Eucalyptus dunnii* Maiden growing in Argentina. Journal of Essential Oil Research. 9(6): 715-717.
- Mooney, H. 2005.** Invasive alien species: a new synthesis. (Vol. 63). Island press.
- Mooney, H y Drake, J. 1989.** Biological invasions: a SCOPE program overview. Wiley. Chichester. 491-506.
- Mora Martinez, A.; Rojas, D.; Torres Chacon, R. y Stashenko, E. 2002.** Comparative study of the essential oils of different species of *Eucalyptus*. En Proceedings IX Latinoamerican Congress of Chromatography. Cartagena de Indias, Colombia. pp 165–166.
- Müller da Silva, P.; Brito, J. y Gomes da Silva Junior, F. 2006.** Potential of eleven *Eucalyptus* species for the production of essential oils. Scientia agricola. 63:85-89.
- Murúa, G.; Molina-Ochoa, J. y Coviella, C. 2006.** Population dynamics of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoids in northwestern Argentina. Florida Entomologist. 89(2): 175-182.

- Nadel, R. y Noack, A. 2012.** Current understanding of the biology of *Thaumastocoris peregrinus* in the quest for a management strategy. *International Journal of Pest Management*. 58(3): 257-266.
- Nadel, R.; Wingfield, M.; Scholes, M.; Garnas, J.; Lawson, S. y Slippers, B. 2015.** Population dynamics of *Thaumastocoris peregrinus* in *Eucalyptus* plantations of South Africa. *Journal of Pest Science*. 88 (1): 97-106.
- Nanni, A.; Magnano, A. y Carpintero, D. 2011.** Los Heteroptera (Insecta: Hemiptera) edáficos del INTA Delta (partido de Campana, Buenos Aires). Variación espacial y temporal del elenco de las especies en distintos usos de la tierra. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*. 13(1): 27-39.
- Nigg, H.; Russ, R.; Mahon, W.; Stamper, J. y Knapp, J. 1991.** Contamination of sucrose solution with aldicarb sulfoxide inhibits foraging by honeybees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*. 84: 810-813
- Noack, A.; Kaapro, J.; Bartimote-Aufflick, K.; Mansfield, S. y Rose, H. 2009.** Efficacy of imidacloprid in the control of *Thaumastocoris peregrinus* on *Eucalyptus scoparia* in Sydney, Australia. *Arboriculture & Urban Forestry*. 35(4):192-196.
- Noack, A.; Cassis, G. y Rose, H. A. 2011.** Systematic revision of *Thaumastocoris* Kirkaldy (Hemiptera: Heteroptera: Thaumastocoridae). *Zootaxa*. 3121: 1-60.
- Noack, A. y Coviella, C. 2006.** *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Hemiptera: Thaumastocoridae): first record of this invasive species in the Americas. *General and Applied Entomology*. 35: 13-14.
- Noack, A. y Rose, H. 2007.** Life-history of *Thaumastocoris peregrinus* and *Thaumastocoris* sp. in the laboratory with some observations on behaviour. *General and Applied Entomology*. 36:27
- Novoselsky, T. y Freidberg, A. 2016.** First record of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) in the Middle East, with biological notes on its relations with eucalyptus trees. *Israel Journal of Entomology*. 46: 43-55.
- Nyeko, P.; Mutitu, E. y Day, R. 2009.** Eucalyptus infestation by *Leptocybe invasa* in Uganda. *African Journal of Ecology*. 47(3): 299-307

- Obeng-Ofori, D.; Reichmuth, C.; Bekele, J. y Hassanali, A. 1997.** Biological activity of 1,8 cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*. 121(1-5): 237-243.
- O'Reilly-Wapstra, J.; Humphreys, J. y Potts, B. 2007.** Stability of genetic-based defensive chemistry across life stages in a *Eucalyptus* species. *Journal of Chemical Ecology*. 33: 1876-1884
- Orians, C. y Jones, C. 2001.** Plants as resource mosaics, a functional model for predicting patterns of within-plant resource heterogeneity to consumers based on vascular architecture and local environmental variability. *Oikos*. 94(3):493–504.
- Oumar, Z. y Mutanga, O. 2014.** Predicting water stress induced by *Thaumastocoris peregrinus* infestations in plantation forests using field spectroscopy and neural networks. *Journal of Spatial Science*. 59 (1): 79-90.
- Paine, T. ; Steinbauer, M. y Lawson, S. 2011.** Native and exotic pests of Eucalyptus: a worldwide perspective. *Annual Review of Entomology*. 56: 181-201.
- Painter, R. 1951.** Insect resistance in crop plants. MacMillan Co.(eds), New York, 520 pp.
- Pålsson, K.; Jaenson, T.; Bäckström, P. y Borg-Karlson, A. 2008.** Tick repellent substances in the essential oil of *Tanacetum vulgare*. *Journal of Medical Entomology*. 45(1): 88-93.
- Palumbo, J.; Horowitz, A. y Prabhaker, N. 2001.** Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*. 20(9): 739-765.
- Park, J.; Choi, J.; Kim, B.; Park, J.; Cho, S.; Ghafar, M. y Shim, J. 2011.** Determination of acetamiprid residues in zucchini grown under greenhouse conditions: application to behavioral dynamics. *Biomedical Chromatography*. 25(1-2): 136-146.
- Parker, J.; Burkepille, D. y Hay, M. 2006.** Opposing effects of native and exotic herbivores on plant invasions. *Science*. 311: 1459-1461.
- Pascal, M.; Guyader, H. y Simberloff, D. 2010.** Biological invasions and the conservation of biodiversity. *Revue Scientifique et Technique*. 29(2):387-403.

- Pastorino, M. 2009.** Bases genéticas de la resistencia de los árboles a las plagas. Serie técnica. Manejo Integrado de Plagas Forestales. Cuadernillo 4.
- Pirk, G. y Lopez de Casenave, J. 2011.** Seed preferences of three harvester ants of the genus *Pogonomyrmex* (Hymenoptera: Formicidae) in the monte desert: are they reflected in the diet?. *Annals of the Entomological Society of America*. 104(2):212-220.
- Pollard, D. 1959.** Feeding habits of the lace-bug *Urentius aegyptiacus* Bergevin (Hemiptera: Tingidae). *Annals of Applied Biology*. 47(4): 778–782.
- Porra, R.; Thompson, W. y Kriedemann, P. 1989.** Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 975(3): 384-394.
- Pöykkö, H. y Hyvärinen, M. 2003.** Host preference and performance of *Lichenivorous eilema* spp. larvae in relation to lichen secondary metabolites. *Journal of Animal Ecology*. 72(3): 383-390.
- Price, P.; Bouton, C.; Gross, P.; McPherson, B.; Thompson, J. y Weis, A. 1980.** Interactions among three trophic levels: influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual review of Ecology and Systematics*. 11(1): 41-65.
- Protasov, A.; La Salle, J.; Blumberg, D.; Brand, D.; Saphir, N.; Assael, F.; Fisher, N. y Mendel, Z. 2007.** Biology, revised taxonomy and impact on host plants of *Ophelimus maskelli*, an invasive gall inducer on *Eucalyptus* spp. in the Mediterranean Area. *Phytoparasitica*. 35(1):50-76
- Rabinovich, J. 1980.** Introducción a la ecología de poblaciones animales. CECSA.
- Ranjith, A. 2007.** An inexpensive olfactometer and wind tunnel for *Trichogramma chilonis* Ishii (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *Journal of Tropical Agriculture*. 45(1-2): 63–65.

- Rask, L.; Andréasson, E.; Ekblom, B.; Eriksson, S.; Pontoppidan, B. y Meijer, J. 2000.** Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology*. 42(1): 93-114.
- Rausher, M. 1985.** Variability for host preference in insect populations: mechanistic and evolutionary models. *Journal of Insect Physiology*. 31(11): 873-889.
- R Development Core Team. 2016.** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- Reinert, J. 1982.** A review of host resistance in turfgrasses to insects and acarines with emphasis on the southern chinch bug. *Advances in Turfgrass Entomology*. 150: 3-12.
- Renwick, J. y Chew, F. 1994.** Oviposition behavior in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*. 39(1): 377-400.
- Ricciardi, A.; Blackburn, T.; Carlton, J.; Dick, J.; Hulme, P.; Iacarella, J.; Jeschke, J.; Liebhold, A.; Lockwood, J.; MacIsaac, H. y Pyšek, P. 2017.** Invasion science: a horizon scan of emerging challenges and opportunities. *Trends in Ecology and Evolution*. 32(6) : 464-474.
- Riquelme, M. y Botto, E. 2010.** Biological studies of *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja (Hymenoptera, Trichogrammatidae), egg parasitoid of *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera, Gelechiidae). *Neotropical Entomology*. 39(4): 612-617.
- Riquelme, M.; Santadino, M. y Di Silvestro, G. 2014.** Estudios biológicos de *Microtheba ochroloma* Stål (Coleoptera, Chrysomelidae), asociadas al cultivo de mostaza blanca (*Sinapis alba* L.) en condiciones de laboratorio y campo. *Revista Horticultura Argentina*. 33(80): 36-42.
- Rhoades, D. 1985.** Offensive-defensive interactions between herbivores and plants: their relevance in herbivore population dynamics and ecological theory. *The American Naturalist*. 125(2): 205-238.

- Rose, H. 1965.** Two new species of Thaumastocoridae (Hemiptera: Heteroptera) from Australia. Proceeding of the Royal Entomological Society of London. 34: 141–144.
- Sakai, A.; Allendorf, F.; Holt, J.; Lodge, D.; Molofsky, J.; With, K.; Baughman, S.; Cabin, R.; Cohen, J.; Ellstrand, N.; McCauley, D.; O'Neil, P.; Parker, I.; Thompson, J. y Weller, S. 2001.** The population biology of invasive species. Annual Review of Ecology and Systematics. 32(1): 305-332.
- Sala, O.; Chapin, F.; Armesto, J.; Berlow, E; Bloomfield, J., Dirzo, R. y Leemans, R. 2000.** Global biodiversity scenarios for the year 2100. Science. 287: 1770-1774.
- Saldúa, V. y Castro, A. 2011.** Expresión de la antibiosis y de la antixenosis contra el pulgón negro de los cereales (*Sipha maydis*) en cultivares comerciales de trigo. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata. 110(1): 1-11.
- Santadino, M.; Brentassi, M.; Fanello, D. y Coviella, C. 2017.** First evidence of *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) feeding from mesophyll of Eucalyptus leaves. Environmental Entomology. 46(2): 251-257.
- Santadino, M.; Liljesthröm, G. y Coviella, C. 2008.** Estudios de preferencia alimentaria de *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero y Dellape). (Heteróptera, Thaumastocoridae), especie invasora plaga sobre distintas especies de *Eucalyptus spp.*. VII Congreso Argentino de entomología. Huerta Grande Corboba. Argentina.
- Savino, V.; Luna, M.; Gervasio, N. y Coviella, C. 2017.** Interspecific interactions between two *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) larval parasitoids with contrasting life histories. Bulletin of Entomological Research. 107(1): 32-38.
- Sazo, L.; Sanhueza, V.; Sepulveda, H. y Prieto, M. 2016.** Eficacia de acetamiprid, fosmet, clorpirifós y pyriproxyfen sobre ninfas de *Diaspidiotus perniciosus* (Hemiptera: Diaspididae) en manzanas. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina, 75(1-2), 37-43.

- Schaefer, C. 1969.** Morphological and phylogenetic notes on the Thaumastocoridae. (Hemiptera-Heteroptera). *Journal of the Kansas Entomological Society*. 42: 251–256.
- Schreiber, S. y Lloyd-Smith, J. 2009.** Invasion dynamics in spatially heterogeneous environments. *The American Naturalist*. 174: 490-505
- Schoonhoven, L.; Van Loon, J. y Dicke, M. 2005.** *Insect-plant biology*. Oxford University press (eds). Oxford. UK.
- Schuh, R. y Slater, J. 1995.** *True Bugs of the World (Hemiptera: Heteroptera): Classification and Natural History*. Comstock Pub. Associates, Ithaca.
- Schuh, R. y Štys, P. 1991.** Phylogenetic analysis of cimicomorphan family relationships (Heteroptera). *Journal of the New York Entomological Society*. 99: 298–350.
- Scriber, J. y Slansky Jr, F. 1981.** The nutritional ecology of immature insects. *Annual Review of Entomology*. 26(1): 183-211.
- Seebens, H.; Essl, F.; Dawson, W.; Fuentes, N.; Moser, D.; Pergl, J.; Pyšek, P.; van Kleunen, M.; Weber, E.; Winter, M. y Blasius, B. 2015.** Global trade will accelerate plant invasions in emerging economies under climate change. *Global Change Biology*. 21(11): 4128-4140.
- Sfara, V.; Zerba, E. y Alzogaray, R. 2009.** Fumigant insecticidal activity and repellent effect of five essential oils and seven monoterpenes on first-instar nymphs of *Rhodnius prolixus*. *Journal of Medical Entomology*. 46: 511-515.
- Shea, K. y Chesson, P. 2002.** Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*. 17: 170-176
- Simberloff, D. 2009.** The role of propagule pressure in biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 40: 81-102.
- Slater, J. 1973.** A contribution to the biology and taxonomy of Australian Thaumastocoridae with the description of a new species (Hemiptera: Heteroptera). *Australian Journal of Entomology*. 12(2): 151-156.

- Smith, C. 1989.** Plant resistance to insects. Wiley (eds). New York.USA. 286 pp
- Smith, C. 2005.** Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches. Springer. The Netherlands.
- Smitha, M. y Pushpalatha, P. 2014.** Efficacy of different insecticides against tea mosquito bug, *Helopeltis antonii Signoret* (Hemiptera: Miridae) on cashew in Kerala. Pest Management In Horticultural Ecosystems. 20(2): 245-248.
- Soliman, E.; Wilcken, C.; Pereira, J.; Dias, T.; Zaché, B.; Dal Pogetto, M. y Barbosa, L. 2012.** Biology of *Thaumastocoris peregrinus* in different *Eucalyptus* species and hybrids. Phytoparasitica. 40(3): 223-230.
- Sopow, S.; George, S. y Ward, N. 2012.** Bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus*: A new *Eucalyptus* pest in New Zealand. Surveillance. 39: 43-46.
- Souza, G.; Pikart, T.; Pikart, F.; Serrão, J.; Wilcken, C. y Zanuncio, J. 2012.** First record of a native heteropteran preying on the introduced *Eucalyptus* pest, *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), in Brazil. Florida Entomologist. 95(2): 517-520.
- Stamp, N. 2003.** Out of the quagmire of plant defense hypotheses. The Quarterly Review of Biology. 78: 23-55.
- Stearns, S. 1992.** The Evolution of Life Histories. Oxford University Press, London, 249 pp.
- Stefanescu, C.; Jubany, J. y Dantart, J. 2006.** Egg-laying by the butterfly *Iphioides podalirius* (Lepidoptera, Papilionidae) on alien plants: a broadening of host range or oviposition mistakes?. Animal Biodiversity and Conservation. 29(1): 83-90.
- Stephens, D. y Krebs, J. 1986.** Foraging theory. Princeton Univ. Press.
- Sur, R. y Stork, A. 2003.** Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. Bulletin of Insectology. 56: 35-40.
- Tarelli, G.; Zerba, E. y Alzogara, R. 2009.** Toxicity to vapor exposure and topical application of essential oils and monoterpenes on *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). Journal of Economic Entomology. 102:1383-1388.
- Thacker, J. R. M. 2002.** An introduction to arthropod pest control. Cambridge



1. **Thompson, J. 1994.** The coevolutionary process. University of Chicago Press, Chicago.
- Thompson, J. y Pellmyr, O. 1991.** Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*. 36(1): 65-89.
- Thu, Q.; Dell, B. y Burgess, T. 2009.** Susceptibility of 18 *Eucalyptus* species to the gall wasp *Leptocybe invasa* in the nursery and young plantations in Vietnam. *Science Asia*. 35: 113-117
- Toloza, A.; Lucia, A.; Zerba, E.; Masuh, H. y Picollo, M. 2010.** *Eucalyptus* essential oil toxicity against permethrin resistant *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Parasitology Research*. 106: 409-414.
- Toloza, A.; Lucia, A.; Zerba, E.; Masuh, H. y Picollo, M. 2008.** Interspecific hybridization of *Eucalyptus* as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina. *Bioresource Technology*. 99:7341-7347.
- Torres, J. y Ruberson, J. 2004.** Toxicity of thiamethoxam and imidacloprid to *Podisus nigrispinus* (Dallas)(Heteroptera: Pentatomidae) nymphs associated to aphid and whitefly control in cotton. *Neotropical Entomology*. 33(1): 99-106.
- Trumble, J.; Kolodny-Hirsch, D. y Ting, I. 1993.** Plant compensation for arthropod herbivory. *Annual Review of Entomology*. 38(1): 93-119.
- Tsutsui, N.; Suarez, A.; Holway, D. y Case, T. 2000.** Reduced genetic variation and the success of an invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 97(11): 5948-5953.
- Udikeri, S.; Patil, S.; Shaila, H.; Guruprasad, G.; Patil, S. y Kranthi, K. 2008.** Mirid menace-A potential emerging sucking pest problem in cotton.
- Unidad para el Cambio Rural (UCAR). 2015.** Argentina: plantaciones forestales y gestión sostenible. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina: 1-30
- van Alphen, J. y Visser, M. 1990.** Superparasitism as an adaptative strategy for insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*. 35: 59–79.

- Van der Heyden, T. 2017.** The first record of *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Hemiptera: Heteroptera: Thaumastocoridae) for Albania. *Revista gaditana de Entomología*. 8(1): 133-135
- Van Driesche, R. y Bellows, T. 1996.** *Biological Control*. Chapman & Hall. NY.
- van Kleunen, M. y Fischer M. 2005.** Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New phytologist*. 166(1):49–60.
- Van Kleunen, M.; Weber, E. y Fischer, M. 2010.** A meta-analysis of trait differences between invasive and non-invasive plant species. *Ecology Letters*. 13(2): 235-245.
- Van Nouhuys, S.; Singer, M. y Nieminen, M. 2003.** Spatial and temporal patterns of caterpillar performance and the suitability of two host plant species. *Ecological Entomology*. 28(2): 193-202.
- Viggiani, A. 1990.** "Hacia un Control Integrado de Plagas". *Hemisferio Sur*. Bs. As. 124 p.
- Villar, R.; Ruiz-Robledo, J.; Quero, J.; Poorter, H.; Valladares, F. y Marañón, T. 2004.** Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. 191-227.
- Vinson, S. 1981.** Hábitat location pp 51 -77. En Nordlum D., Jones R, y Lewis W, ed. *Semiochemical their role in pest control*. John Wliys and son. NY.
- Visser, J. 1988.** Host-plant finding by insects: orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology*. 34(3): 259-268.
- Vitousek, P.; D'Antonio, C.; Loope, L. y Westbrooks, R. 1996.** Biological invasions as global environmental change. *American Scientist*. 84: 468–478.
- Vivanco, J.; Cosio, E.; Loyola-Vargas, V. y Flores, H. 2005.** Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y Ciencia*. 341(2): 68-75.
- Walter, G. 2003.** *Insect Pest Management and Ecological Research*. Cambridge University Press. 387 pp.
- Weber, N.A. 1982.** Fungus ants. En *Social insects*. Vol 4. H.R. Hermann (Ed.). Academic Press, London. 255-363 pp.

- Weichel, L. y Nauen, R. 2004.** Uptake, translocation and bioavailability of imidacloprid in several hop varieties. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*. 60(5): 440-446.
- West, S. y Cunningham, J. 2002.** A general model for host plant selection in phytophagous insects. *Journal of theoretical Biology*. 214(3): 499-513.
- Westwood, F.; Bean, K.; Dewar, A.; Bromilow, R. y Chamberlain, K. 1998.** Movement and persistence of [14C]-imidacloprid in sugar-beet plants following application to pelleted sugar-beet seed. *Pesticide Science*. 52: 97–103.
- Wheeler A. 2001.** Morphology Physiology and behavior in relation to feeding. In: *Biology of the Plant Bugs (Hemiptera: Miridae): Pests, Predators, Opportunists*. University Press, Ithaca, NY.
- Wilcken, C.; Berti Filho, E.; Ottati, A.; Firmino, D. y Do Couto, E. 2002.** Ocorrência de *Phoracantha recurva* Newman (Coleoptera: Cerambycidae) em eucalipto no Estado de São Paulo, Brasil. *Scientia Forestalis/Forest Sciences*. 149-153.
- Wilcken, C. 2008.** Percevejo Bronzado do Eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* (Hemíptera: Thaumastocoridae): Ameaca as florestas de Eucalipto Brasileiras. PROTEF/IPEF, Botucatu, SP, FCA- UNESP.
- Wilson, J.; Dormontt, E.; Prentis, P.; Lowe, A. y Richardson, D. 2009.** Something in the way you move: dispersal pathways affect invasion success. *Trends in Ecology and Evolution*. 24(3): 136-144.
- Wingfield, M.; Slippers, B.; Hurley, B.; Coutinho, T.; Wingfield, B. y Roux, J. 2008.** Eucalypt pests and diseases: growing threats to plantation productivity. *Southern Forests: a Journal of Forest Science*. 70(2): 139-144.
- Woodard, A.; Ervin, G. y Marsico, T. 2012.** Host plant defense signaling in response to a coevolved herbivore combats introduced herbivore attack. *Ecology and Evolution*. 2(5): 1056-1064.
- Xue, H. J., Wang, S. Y., Li, W. Z., Zhang, X. Z., y Yang, X. K. 2007.** Bionomics of *Altica fragariae*. *Chinese Bulletin of Entomology*. 44: 69-73.

- Zabala J. 2010.** Respuestas inmunológicas de las plantas frente al ataque de insectos. *Ciencia Hoy*. 20(117): 53-59.
- Zanetti, R.; Jaffé, K.; Vilela, E.; Zanuncio, J. y Leite, H. 2000.** Efeito da densidade e do tamanho de saueiros sobre a produção de madeira em eucaliptais. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 29(.1): 105-112.
- Zanuncio, J.; Alves, B.; Zanuncio, T. y Zanuncio, J. 1993.** Hemípteros predadores de lagartas desfolhadoras de eucalipto. *Manual de pragas em floresta: biologia, ecologia e controle (1)*. Viçosa. IPEF. SIF.
- Zanuncio, J.; Sossai, M.; Oliveira, H. y Zanuncio Junior, J. 2002.** Influência das iscas formicidas Mirex-S e Blitz na paralisação de corte e no controle de *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Árvore*. 26: 237-242.
- Zar, J. 2010.** Biostatistical analysis. Pearson Education India (eds).
- Zaracho, S.; López, V. y De López, M. 2014.** Monitoreo de la chinche del eucalipto *Thaumastocoris peregrinus* (Carpintero & Dellapé) en plantaciones de los departamentos de Alto Paraná y Caazapá. *Investigación Agraria*. 14(1): 51-56.