

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemíptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA ARGENTINA

Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

“Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemíptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)”

Trabajo final de graduación para optar por el título de:

Ingeniero Agrónomo

Autor: Ferrari Ostry, Máximo.

Tutor: Dra. Andorno, Andrea V.

Fecha: 30/3/2021

Nota: 10 (diez)

RESUMEN

El género *Eucalyptus* spp es originario de Australia y comprende más de 500 especies y subespecies. Del millón de hectáreas de bosques cultivados en la Argentina, unas 313.869 corresponden a *Eucalyptus* spp. Esta especie se ve amenazada por un insecto exóticos invasivo (*Thaumastocoris peregrinus*) proveniente de Australia que afecta la capacidad fotosintética del árbol disminuyendo su productividad. Para su control se importó en 2014 desde Uruguay un biocontrolador específico (*Cleruchoides noackae*) que parasita los huevos de la plaga. En el marco del sistema tri.trófico (eucalipto- plaga- biocontrolador), el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto que tiene almacenar en frío huevos frescos de *T. peregrinus* sobre el parasitoide *C. noackae* y la proporción sexual de la descendencia (F1) con el fin de conocer los tiempos de almacenaje más eficientes para optimizar la producción del parasitoide en el tiempo y sincronizarlo con la demanda de los productores.

Se probaron los siguientes tratamientos: 0, 5, 10, 20 y 30 días de almacenaje en frío (8°C). Transcurrido el tiempo de almacenaje correspondiente, una pareja de *C. noackae* fue expuesta a 10 huevos según el tratamiento. Las variables medidas fueron el porcentaje de parasitismo medido como el cociente entre el número de adultos de *C.noackae* sobre el número total de huevos de *T. peregrinus* y la proporción sexual de la F1 medida como el cociente entre el número de hembras sobre la suma del número de hembras y el número de machos multiplicado por 100.

No se observaron diferencias significativas para la variable parasitismo entre los tratamientos evaluados. El porcentaje de parasitismo mayor correspondió al tratamiento de 10 días y fue en promedio de $25 \pm 5,3\%$ (media $\pm$ E.E.), mientras que los porcentajes más bajos de parasitismo fueron de $12 \pm 5,12\%$ (media $\pm$ E.E.) obtenidos en el tratamiento de 30 días. La proporción sexual no se vio afectada en los distintos tiempos de almacenaje, se obtuvieron valores promedios de 50% acordes a los reportados para la especie.

Estos resultados constituyen información valiosa para establecer los conocimientos tecnológicos para la optimización del proceso de producción del biocontrolador. Futuras investigaciones debieran contemplar aumentar el número de réplicas dada la gran variabilidad obtenida en los datos. Asimismo, se espera evaluar otras temperaturas de almacenaje en frío y evaluar el efecto de estas condiciones sobre la palatabilidad de los huevos ofrecidos al parasitoide.

Palabras clave:

Thaumastocoris peregrinus; parasitoide, eucaliptus, biocontrol

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo

RESUMEN	3
Palabras clave:	3
AGRADECIMIENTOS	5
INTRODUCCIÓN	6
El eucalipto	6
Insectos invasores y principales plagas asociadas al eucalipto	9
Aspecto biológico, ciclo de vida y características reproductivas de la plaga (T. peregrinus)	9
Distribución geográfica de la plaga	13
Efecto sobre el cultivo y daño	14
Estrategias de control de Thaumastocoris peregrinus	15
Aspecto biológico, ciclo de vida y características reproductivas del parasitoide (C. noackae)	16
Distribución geográfica	18
Herramienta de control biológico	18
Técnica de almacenamiento en frío	19
OBJETIVOS	21
MATERIALES Y MÉTODOS	22
Cría de T. peregrinus	23
Cría de C. noackae	24
Diseño del ensayo de almacenaje en frío	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
CONCLUSIÓN	33
BIBLIOGRAFÍA	34

AGRADECIMIENTOS

- A mi tutora, Dra. Andrea V. Andorno por transmitirme su conocimiento y completa dedicación para el desarrollo de esta tesis.
- A Carmen M. Hernandez, Diana O. Arias, Mariana M. Viscarret, Silvia N. Lopez, Cynthia L. Cagnotti, Eliana M. Cuello y Ana M. Cherino del equipo de Lucha Biológica del IMyZA, por ofrecerme su ayuda y conocimientos en todo momento.
- Al Ing. Pablo S. Pathauer, del Instituto de Recursos Biológicos en el área de mejoramiento genético forestal por brindarme el espacio y la información para extraer el material requerido para la investigación.
- A la UCA por el aprendizaje y oportunidades brindadas durante estos años.
- A mis padres y a mi familia por darme la posibilidad de estudiar y apoyarme en cada decisión.
- A Martina M. Chaile por su apoyo incondicional. Por escucharme, contenerme y alentarme SIEMPRE.

INTRODUCCIÓN

El eucalipto

El género *Eucalyptus*, de la familia de las Mirtáceas tiene una diversidad de más de 500 especies, es un género con especies adaptadas a una gran diversidad de hábitats, desde el nivel del mar hasta los 2300 m. Se encuentran en casi todos los tipos de suelos, desde ácidos hasta alcalinos. Es originario de Australia y Tasmania, donde pueden encontrarse representantes nativos (Granados-Sánchez & López-Ríos, 2007).

A la largo del siglo XIX, se produjo una dispersión de la especie *Eucalyptus globulus* a muchas partes del mundo. Primero en Francia, pero rápidamente se introdujo en otros países mediterráneos, en África y en América. Así comenzó su cultivo como especie exótica. El proceso de adaptación generacional a otros sitios ocasionó que se desarrollen razas locales en diferentes países, ya sea partiendo de las primeras introducciones o incluso posteriores de Australia o exóticas (Potts et al., 2004).

El eucalipto en la Argentina habría sido introducido en 1857 por Domingo F. Sarmiento, con semillas de *E. globulus* que hizo sembrar en estancias y campos de la provincia de Buenos Aires. En nuestro país la forestación con eucaliptos acompañó el desarrollo de los grandes establecimientos agrícolas, donde se lo plantó como cortina rompe viento, para protección de viviendas y del ganado siguiendo luego la ornamentación de parques y plazas (SAGyP; INTA, Concordia., 1995).

Actualmente, el estado nacional apoya la actividad forestal a través de la ley 25.080 de inversiones para bosques cultivados que otorga beneficios de dos tipos, fiscales (estabilidad fiscal nacional, provincial, municipal, y amortización anticipada) y Apoyo Económico No Reintegrable (AENR) a la forestación, enriquecimiento de bosques nativos y tratamientos silviculturales (hasta 3 podas, raleo perdido y manejo de rebrotes). El AENR consiste en el otorgamiento del 80% de los costos estimados por la Subsecretaria de Desarrollo Foresto Industrial para la especie, zona y actividad a considerar, siendo en el caso de las actividades silviculturales un apoyo del 70% del costo estimado (MAGyP, 2020).

El país cuenta con un potencial de 26.589.000 hectáreas de tierras forestales, y alrededor de 1.317.793 de hectáreas de bosques cultivados. La superficie implantada con eucaliptos es de aproximadamente 313.869 ha, lo cual representa un 23,8% de la superficie total destinada para producción forestal, por lo que constituye un recurso

forestal de importancia para la Argentina. Las plantaciones están localizadas mayormente en las provincias de Corrientes (121.857 ha), Entre Ríos (112.785 ha), Misiones (40.902 ha) y Buenos Aires (7.818 ha) aunque también hay importantes áreas forestadas en el Noroeste Argentino (NOA): Jujuy, Salta, Tucumán (15.875 ha) y en Santa Fe, Córdoba, La Pampa (14.632 ha) (Secretaría De Política Económica., 2019).

El crecimiento del área forestada con especies de *Eucalyptus* ha alcanzado en los últimos años un nivel significativo. Las principales especies que se cultivan en la Argentina son: *E. grandis*, *E. dunnii*, *E. tereticornis*, *E. globulus* y *E. camaldulensis* (Santadino, 2019).

La importancia del género *Eucalyptus* radica en diversos factores. Se trata de una gran fuente de recursos para la humanidad, ya que las especies se adaptan a prácticamente todos los climas (excepto los extremadamente fríos); tienen la capacidad de producir grandes cantidades de madera en períodos de tiempo relativamente cortos; tienen la capacidad de recuperarse ante la acción negativa del fuego, sequías, plagas, ramoneo, entre otras, gracias a mecanismos defensivos variados propios de las especies y se adaptan a suelos pobres y deteriorados (por erosión o por manejo irracional) (Beale & Ortiz, 2013.).

En líneas generales podemos decir que la producción de eucaliptos tiene múltiples usos. Su madera es una de las fuentes principales de materia prima para la industria papelera. Gracias a su fibra corta, es usada para la fabricación de papel de alta calidad. También es utilizada para obtener carbón vegetal o en proyectos de reforestación. Este grupo arbóreo, es empleado también como medicina natural en los tratamientos terapéuticos contra enfermedades respiratorias, como antiséptico para tratar enfermedades de la piel o como antiinflamatorio muscular. En lo referente a la utilidad de su madera, tienen propiedades especiales para ser utilizadas en la elaboración de estructuras arquitectónicas y para la fabricación de postes para comunicaciones, suelos de parquet, mueblería, instalaciones ganaderas, tableros de fibra, entre los más importantes (Beale & Ortiz, 2013.).

Además de emplearse para diversas industrias y generar beneficios económicos, los bosques implantados de eucaliptos, proveen a la sociedad importantes beneficios ambientales como la fijación de carbono, sustitución en el uso de maderas nativas, favorecen la recuperación de suelos degradados, sirven de protección para los recursos hídricos, entre otros bienes.

El enfoque actual de la producción forestal sostenible plantea exigencias y desafíos vinculados a los aspectos e intereses sociales y a la protección de los servicios ambientales. Argentina tiene una oportunidad importante para insertarse en los mercados globales de productos de base forestal. Se estima que habrá una demanda creciente motorizada por los siguientes factores: crecimiento de la población urbana; expansión del comercio por internet (puerta a puerta) y por las medidas de mitigación del cambio climático y sostenibilidad que promueven la sustitución de productos carbono intensivo (como el cemento y los combustibles fósiles) por alternativas baja en carbono, y productos no renovables (como plásticos, aluminios y otros) por productos renovables (MAGyP., 2019).

La producción de tablas para pallets, construcción y embalaje se encuentra en pleno auge ante la creciente demanda de la Comunidad Económica Europea y Argentina presenta ventajas competitivas para la exportación de estos productos forestales, sobre la base de su capacidad de producción de rollizos de tamaño y calidad en turnos cortos. Con respecto al mercado interno, la madera rolliza cuenta con dos grandes consumidores: la industria del aserrado y la celulósica papelera. Por otro lado, en el mercado internacional existe un enorme potencial de utilizar la madera de eucalipto en reemplazo de latifoliadas tropicales por la disminución en su disponibilidad, las crecientes presiones ambientalistas y la resistencia de los consumidores a utilizarlas. Pero las exigencias en calidad, junto a las de certificación de los procesos y productos, se visualizan como las principales restricciones de exportación de la madera de especies cultivadas, constituyendo a su vez una gran oportunidad (Larocca, Aparicio, & Dalla-Tea, 2005).

Existen a nivel mundial cada vez más restricciones de uso de varios principios activos en la producción forestal y este punto resulta de vital importancia para las empresas forestales exportadoras que certifican su producción mediante ISO, FSC y CERFOAR.

El mercado ya muestra una diferenciación de valores, los certificados de sistemas y productos “ecológicamente amigables” y “socialmente responsables” son hoy un elemento fundamental que hace a la calidad (Larocca, Aparicio, & Dalla-Tea, 2005).

La calidad puede verse afectada por insectos exóticos invasivos que al encontrarse en ausencia de un biocontrolador natural se establecen convirtiéndose en plaga. Esta tendencia requiere el fortalecimiento de las estrategias actuales. Teniendo en cuenta los beneficios que conlleva la buena gestión de los bosques implantados de eucaliptos

y la oportunidad comercial que representan para el mercado internacional, surge la importancia de utilizar adecuadas estrategias para mantener su estado sanitario.

Insectos invasores y principales plagas asociadas al eucalipto

Una de las principales amenazas para la producción forestal de eucalipto suele ser los insectos plaga exóticos. A lo largo de los años el aumento del comercio y los viajes internacionales han incrementado el número de plagas y patógenos nativos australianos, que se introdujeron en las plantaciones de eucalipto en todo el mundo (Martinez, Gonzalez, & Dicke, 2018).

Argentina es uno de los países afectados por esta problemática. Junto con la expansión de las plantaciones forestales, se han detectado la presencia y el establecimiento de algunos insectos nativos de Australia que se incorporaron a la fauna local y alcanzaron el estatus de plaga (Andorno, Botto, & Hernandez, 2017).

Estas plagas se ven beneficiadas por los monocultivos que a veces están representados por un único genotipo siendo más susceptibles al ataque de las plagas por la falta de variabilidad genética y facilitando el ataque de los insectos invasores exóticos. Además, estos insectos invasores tienen la particularidad de ser específicos de la planta hospedera, los cuales a su vez se encuentran en un área libre de sus enemigos naturales con los que han coevolucionado. Estos factores contribuyen a favorecer la entrada, establecimiento y explosión poblacional de las especies invasoras (Schnell e Schühli, Penteado, Barbosa, Filho, & Iede, 2016).

Entre las plagas asociadas a los eucaliptos se pueden encontrar el complejo de gorgojos (*Gonipterus scutellatus* y *Gonipterus gibellus*), el taladro *Phoracantha semipunctata*, hormigas cortadoras de los géneros *Atta* y *Acromyrmex*, el psílido del escudo (*Glycapsis brimblecombei*), el complejo de avispas agalladoras (*Leptocybe invasa* y *Ophelimus maskelli*) y la chinche del eucalipto (*Thaumastocoris peregrinus*) (Cuello, 2019).

Aspecto biológico, ciclo de vida y características reproductivas de la plaga (*T. peregrinus*)

La “chinche del eucalipto”, *Thaumastocoris peregrinus*, se encuentra entre los organismos exóticos que forman parte de las múltiples invasiones biológicas que han sufrido los eucaliptos de Sudamérica en los últimos 15 años y constituye uno de los motivos de mayor preocupación para los productores forestales del país y el Cono Sur de Latinoamérica. Por ser una especie exótica, *T. peregrinus* carece en las áreas

invadidas de enemigos naturales apropiados capaces de regular sus poblaciones de manera eficiente (Botto, Andorno, Cuello, & Hernandez, 2015).

T. peregrinus presenta metamorfosis incompleta del tipo paurometabolo, con cinco estadios ninfales (Noack & Rose, 2007) . Es un insecto de cuerpo aplanado, fitófago con aparato bucal picador succionador, y de hábito gregario. Es específico de los árboles de eucalipto donde su alimentación provoca tizón foliar, aumento del estrés y, en casos severos, defoliación o muerte del árbol (Nadel & Noack, 2012). En su desarrollo atraviesa tres estados: huevo, ninfa y adulto. (Fig.1).

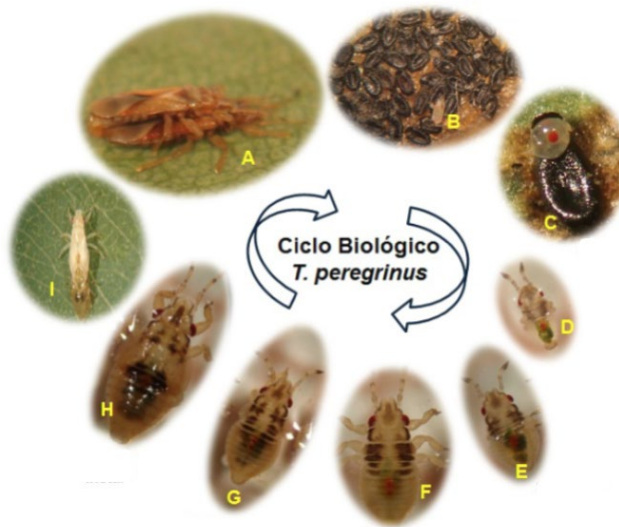


Figura 1: (A) Huevos; (B) ninfa; (C) adulto de *Thaumastocoris peregrinus* (Jímenez Guarda, 2011.).

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 (Santadino, 2019).

Cuando estos huevos son frescos, recién ovipuestos tienen un aspecto negro brillante y se observa una depresión en el centro. Luego de la eclosión de la ninfa se tornan opacos y se observa en uno de sus extremos la membrana interna del opérculo, por donde emergen las ninfas.

Tiene cinco estadios ninfales (Fig. 2A), las ninfas tienen el cuerpo aplanado, con una coloración anaranjada con puntos negros en el tórax y ojos rojos (Fig. 2B) . Poseen esbozos alares que son visibles a partir del cuarto estadio ninfal y se desarrollan significativamente durante el quinto estadio (Soliman et al., 2012).



2A

Figura 2A: Ciclo biológico de *T. peregrinus*: (A) Cópula; (B) Huevos; (C) Eclosión; (D) ninfa de 1er estadio; (E) ninfa de segundo estadio; (F) ninfa del tercer estadio; (G) ninfa de cuarto estadio; (H) ninfa de quinto estadio; (I) Emergencia (Soliman, 2012).



2B

Figura 2B: Ninfa de *T. peregrinus* (Wilcken, 2010).

El adulto mide aproximadamente 3 mm de largo y es muy ágil, su longevidad promedio es de 23 días y presenta antenas con cuatro segmentos. Son de color marrón claro con áreas más oscuras. El abdomen masculino es asimétrico (Fig.3A) y el abdomen femenino es redondeado (Fig. 3B) (Barbosa et al., 2010).

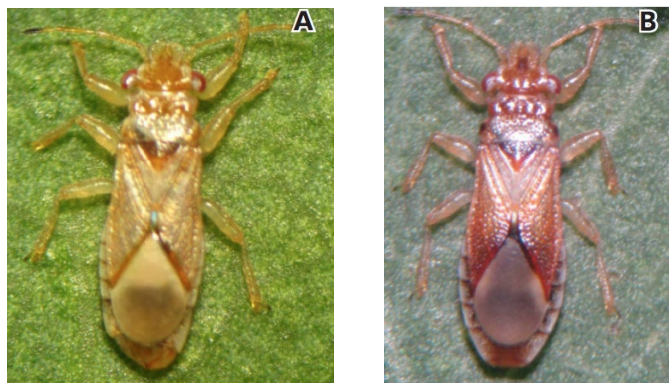


Figura 3: (A) Macho de *Thaumastocoris peregrinus*; (B) Hembra de *Thaumastocoris peregrinus* (Macho: órgano rectal asimétrico y Hembra: órgano rectal redondeado) (Barbosa, 2010).

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, Lopez, Cantero, Gonzalez, & Dick, 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 siendo la producción total por hembra de $39,5 \pm 6,1$ durante un periodo de ovoposición de $15,5 \pm 2,3$ días. Todas las fases de desarrollo pueden presentarse en la misma hoja y varias generaciones pueden desarrollarse en un año (Noack & Rose, 2007).

Los huevos son de color negro y se depositan en forma de clúster sobre la superficie de la hoja y sobre ramas, prefiriéndose la nervadura media de la superficie de la hoja y las partes de tejido vegetal dañado (Noack, Kaaparo, Bartimote-Aufflick, Mansfield, & Rose, 2009).

De esta manera dan el aspecto de manchas oscuras que facilitan el reconocimiento de plantas infestadas (Fig.4).

Los clústers mencionados se forman por las posturas de varias hembras siendo disetaneos de manera que es posible observar en un mismo árbol infestado los diferentes estados de desarrollo de la plaga.

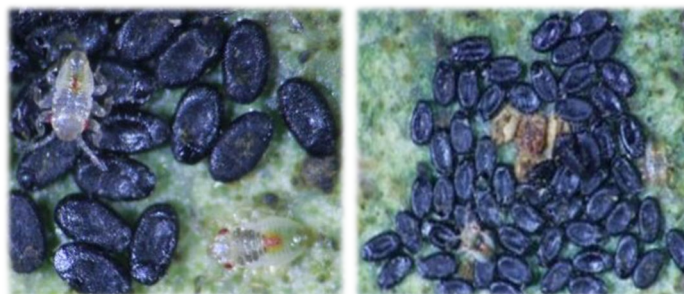


Figura 4: Clúster de huevos de *T. peregrinus* sobre hoja de eucalipto.

Distribución geográfica de la plaga

Thaumastocoris peregrinus es nativa de Australia, siendo detectada en la primera década del siglo XXI en América de sur donde ha evidenciado una rápida dispersión. Los adultos y las ninfas pueden correr de manera rápida e impredecible cuando se los molesta, lo que sugiere que podrían dispersarse fácilmente por muchos vectores, como el viento, el transporte de plantas o ramas (Ide, Ruiz, Sandoval, & Valenzuela, 2011) y las aves (Noack & Rose, 2007).

Su rápida tasa de reproducción y su capacidad de dispersarse pueden facilitar su establecimiento exitoso en entornos recientemente invadidos (Nadel, Slippers, & Scholes, 2009).

Luego de registrarse en las zonas urbanas de Sídney, Australia en 2001 (Noack, Cassis, & Rose, 2011), se propagó a otros continentes rápidamente. Dada la rápida dispersión ocurrida en el resto del mundo desde su primera detección fuera de Australia, *T. peregrinus* se convirtió en una plaga de alto impacto de las principales especies comerciales del género *Eucalyptus*.

Se registró por primera vez en Sídney en 2001-2002 (Noack, Cassis, & Rose, 2011), en 2003 en África del Sur (Jacobs & Nesser, 2005), en el 2005 en Argentina ; Uruguay y Brasil en el 2008; en Chile y Paraguay en el 2009 (Fig. 5) infestando diferentes especies e híbridos de eucaliptos, incluyendo: *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. viminalis*, *E. grandis*, *E. dunnii*, *E. saligna*, *E. grandis x camaldulensis*, *E. grandis x urophylla*, *E. paniculada*, *E. robusta*, *E. syderoxylon* entre otras (Wilcken et al., 2010) (Nadel et al., 2010) (Soliman et al., 2012).

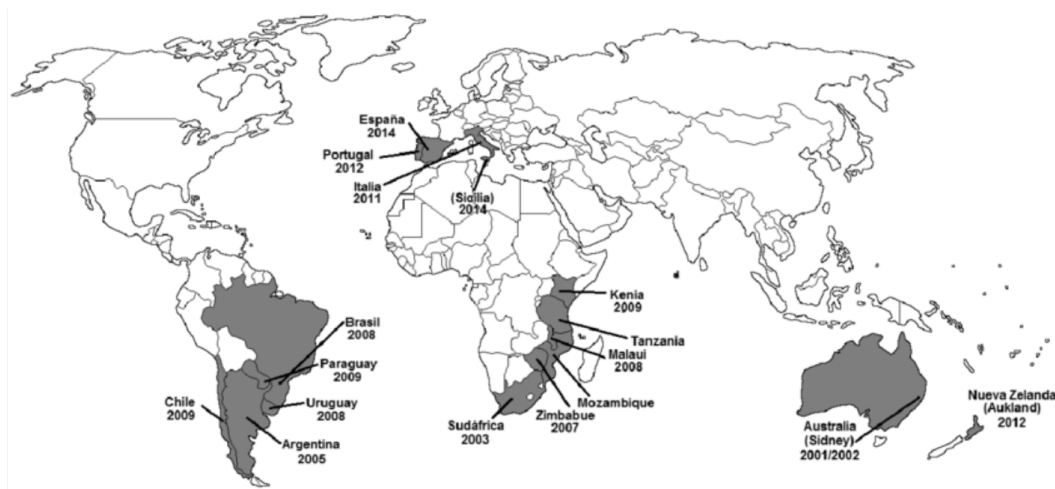


Figura 5: Distribución mundial por países de *T. peregrinus* (Jacobs & Nesser, 2005).

Efecto sobre el cultivo y daño

Ataca preferentemente a las hojas maduras en el tercio medio o inferior de la copa (Soliman et al., 2012) y generan los siguientes síntomas de daño: inicialmente, el plateado de las hojas (Fig. 6A), que con el tiempo se tornan en tonalidades marrones y rojas, lo que le da a los árboles el aspecto bronceado, característica que dio origen al nombre del insecto (Fig. 6B) (Jacobs & Nesser, 2005).

Estos síntomas afectan la coloración de la copa permitiendo una identificación de la presencia de la plaga a la distancia. Un aumento de las densidades poblacionales de la chinche trae consigo un aumento en el daño que ocasionan en el follaje, lo cual se traduce en una fuerte reducción de la tasa fotosintética, incluso la defoliación completa del árbol. Esto trae como consecuencia el aumento en el grado de susceptibilidad al ataque de otras plagas y enfermedades que disminuyen significativamente el rendimiento. De esta manera se compromete el desarrollo de los árboles y, en consecuencia, su conversión en celulosa, carbón vegetal y de madera para obtener energía. Por lo tanto, el daño causado por este insecto podría tener graves consecuencias para estas industrias, reduciendo el aumento y la oferta de madera. (Noack & Coviella, 2006).



A

B

Figura 6: Daño en eucalipto de *T. peregrinus*: (A) Plateado de las hojas (Barbosa) ;
(B) Bronceado de las hojas (Corallo)

Estrategias de control de *Thaumastocoris peregrinus*

Esta especie presenta escasos enemigos naturales específicos, lo que la ha convertido en una amenaza para la producción forestal. El control químico no es rentable debido al costo económico que implica el uso de agroquímicos. Los pesticidas como el imidacloprid son efectivos a pequeña escala, pero su uso no es económicamente viable ni ecológicamente aceptable como estrategia de manejo a largo plazo (Noack, Kaaparo, Bartimote-Aufflick, Mansfield, & Rose, 2009).

Asimismo, el costo ecológico se contrapone a la demanda mundial por producciones de madera sustentables. Por otro lado, la opción de un huésped resistente no es viable, ya que se ha informado que *T. peregrinus* ataca a una amplia variedad de especies de eucaliptos, sin patrones claros de resistencia del huésped (Noack, Cassis, & Rose, 2011) (Soliman et al., 2012).

En este contexto, es necesario proponer medidas de control que sean alternativas y de bajo riesgo ambiental, considerando una perspectiva más ecológica e integradora. El abordaje más efectivo al problema de las plagas forestales tales como *T. peregrinus* es el manejo integrado de plagas (MIP) (FAO, 2011).

El manejo integrado de plagas surge como respuesta a los riesgos asociados al uso excesivo de insecticidas para el control de insectos plagas (Kogan, 1998).

Está basado en una combinación de tácticas de manejo para asegurar la sostenibilidad económica y ecológica de los cultivos, minimizando el impacto sobre la sociedad, el ambiente y los organismos no blanco (Ehler, 2006).

Entre las tácticas empleadas para el manejo integrado de plagas forestales se encuentra el control biológico que consiste en utilizar enemigos naturales para disminuir la densidad poblacional de la plaga a valores menores al umbral de daño económico (Van Driesche & Bellows, 1996).

Se ha informado que las epizootias de campo con los hongos *Aspergillus sp.*, *Beauveria bassiana*, *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Paecilomyces cateniannulatus* y *Zoophtora radicans* causan altas tasas de mortalidad de *T. peregrinus* en ninfas y adultos (Soliman, Wilcken, Monteiro - Castro e Castro, & Firmino, 2018).

Depredadores naturales como *Chrysoperla externa*, *Supputius cincticeps* y *Atopozelus opsimus* se alimentan tanto de ninfas de *T. peregrinus* como de adultos, pero estos depredadores son insuficientes debido a la baja especificidad del huésped (Barbosa et al., 2010) (Cuello, 2019) (Souza, Pilkart, Serrão, Wilcken, & Zanuncio, 2012).

Sin embargo, existe como alternativa un parasitoide altamente específico que ha logrado que actualmente los esfuerzos de control biológico sobre *T. peregrinus* se encuentren orientados a la optimización en los procesos de cría y reproducción en laboratorio del mismo. Se trata del enemigo natural *Cleruchoides noackae*.

Aspecto biológico, ciclo de vida y características reproductivas del parasitoide (*C. noackae*)

Es una pequeña avispa, endoparasitoide oófago (Fig. 7) con partenogénesis arrenotoquia (haplodiploidia), generalmente de color marrón, alas hialinas y mide aproximadamente 0.5 mm de longitud (Mutitu et al., 2013).

La hembra se diferencia del macho por presentar antenas de forma clavadas y el macho filiformes (Fig. 8).

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo

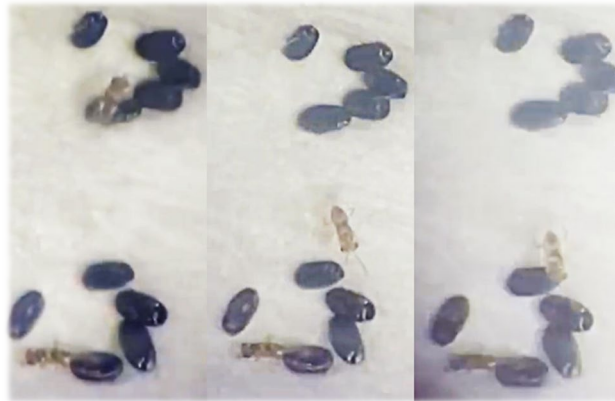


Figura 7: Hembra de *Cleruchoides noackae* parasitando huevo de *T. peregrinus* sobre papel tisú.



Figura 8: Macho: antenas clavadas; Hembra: antenas filiformes (Embrapa)

El tiempo de desarrollo de huevo-adulto es de aproximadamente 17 a 20 días a 24 ° C y la longevidad de adultos varía de 1 a 3 días con y sin alimento respectivamente (Mutitu et al., 2013).

Su alimento en la naturaleza se basa en diferentes fuentes nutricionales como azúcares y otros carbohidratos ya que el consumo de alimentos como azúcares, proporciona energía para mantener el metabolismo, la longevidad, la fecundidad y la actividad de vuelo de los insectos (Tenhumberg, Siekmann, & Keller, 2006).

Las hembras pueden controlar selectivamente la fertilización del huevo. Los huevos diploides fertilizados originan hembras mientras que los huevos haploides no fertilizados producen machos. Esto permite que los parasitoides pongan huevos de hembra en los

mejores hospederos, reservando los machos para hospederos menos óptimos (Van Driesche, 2017).

En cuanto a su nivel de parasitismo, en Sídney, Australia, los estudios de laboratorio y de campo con *C. noackae* realizados por Cross (2009) mostraron una tasa de parasitismo del 25% y 21%, respectivamente. Sin embargo, en Brasil el porcentaje de huevos parasitados por *C. noackae* en los sitios de liberación fue cercano al 50% confirmándose su establecimiento en el país (Barbosa, Souza, Foerster, & Monteiro-Castro e Castro, 2018).

Distribución geográfica

Es un parasitoide de huevos de *T. peregrinus* originario de Australia, utilizado en el mundo como agente de control biológico (Mutitu et al., 2013).

En América del Sur, Chile lo importó desde Australia, lo multiplicó en cuarentena y lo liberó en 2009, Brasil lo importó también desde Australia en 2012. Luego en Uruguay esta especie fue importada desde Brasil en 2013 (Nadel & Noack, 2012).

En la Argentina fue importado en 2014 desde Uruguay en el marco de un proyecto de cooperación entre los países de la región propulsado por el Programa Cooperativo para el Desarrollo Tecnológico Agroalimentario y Agroindustrial del Cono Sur (PROCISUR) y el Comité de Sanidad Vegetal (COSAVE), del que participaron investigadores del INTA y SENASA (Argentina), EMBRAPA (Brasil), INIA (Uruguay) y SAG (Chile) (Botto, Andorno, Cuello, & Hernandez, 2015).

Herramienta de control biológico

Los insectos invasores (bien adaptados al clima y compitiendo con la comunidad nativa) a menudo permanecen como plagas de alta densidad porque los enemigos naturales locales no están especializados en alimentarse de especies desconocidas. Consecuentemente, el nivel de ataque está demasiado limitado para controlar adecuadamente a la plaga.

De las tres tácticas de control biológico existentes (clásico, aumentativo y conservativo) para este tipo de plagas se utiliza el control biológico clásico que consiste en la introducción de un enemigo natural en un nuevo ambiente con el fin de que se establezca de forma permanente y regule a la plaga de manera sostenida en el tiempo.

Este método es especialmente adecuado para los casos en que una especie se establece en áreas fuera de su rango nativo donde no están presentes los enemigos naturales que la regulan normalmente (Fischbein, 2012).

En tales casos, las introducciones de enemigos naturales especializados (ej. *C. noackae*) que han tenido una relación evolutiva con la plaga (ej. *T. peregrinus*) son necesarias para su control (Van Driesche, 2017).

El control biológico de la plaga *T. peregrinus* utilizando el parasitoide *C. noackae* como enemigo natural, surge como una herramienta sostenible en el tiempo ya que es un parasitoide específico para esta plaga. En este sentido, es importante optimizar los procesos para la multiplicación, reproducción y posterior liberación de *C. noackae* contribuyendo a largo plazo de manera indirecta, a la mitigación de los efectos del cambio climático y al fortalecimiento del ecosistema, ya que es una alternativa para manejar el estado sanitario de los eucaliptos de manera responsable con el medio ambiente evitando el uso de productos químicos que puedan intervenir negativamente con el ecosistema.

Técnica de almacenamiento en frío

El almacenamiento a temperaturas subóptimas (a menudo llamado “almacenamiento en frío”) puede ser una herramienta útil en la cría masiva de agentes de biocontrol entomófagos (Benelli, Marchetti, & Dindo, 2017) (Rathee & Ram, 2018).

El almacenamiento a baja temperatura permite una mayor flexibilidad en la producción y envío de insectos beneficiosos y facilita la sincronización entre la disponibilidad de los biocontroladores criados en un insectario comercial y su tiempo de liberación en el sitio objetivo (Rathee & Ram, 2018).

En situaciones apropiadas de almacenamiento en frío, los huevos pueden entrar en un estado inactivo que es una respuesta inmediata a condiciones ambientales adversas (por ejemplo, baja temperatura) y da como resultado un desarrollo lento o detenido (Rezaei et al., 2020).

Con esta técnica se espera encontrar el mejor tratamiento que garantice una buena producción y de buena calidad biológica para aumentar la cantidad de insectos producidos por unidad de tiempo.

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemíptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo

OBJETIVOS

En el marco del sistema tri.trófico, eucalipto- plaga- biocontrolador, aquí presentado, el objetivo general de esta tesis fue evaluar el efecto que tiene el almacenaje en frío de los huevos de *T. peregrinus* sobre el parasitoide *C. noackae*.

Para ello se proponen los siguientes objetivos específicos:

1. Evaluar el efecto del almacenaje en frío de los huevos de *T. peregrinus* sobre el parasitismo de *C. noackae*.
2. Evaluar el efecto del almacenaje en frío de los huevos de *T. peregrinus* sobre la proporción sexual de la progenie de *C. noackae*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica, perteneciente al Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, CICVyA- INTA Castelar. Los ensayos se realizaron en cámaras de cría bajo condiciones controladas de temperatura ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$), humedad relativa ($70\pm 10\%$) y fotoperiodo (12:12). Para obtener los insectos necesarios para la realización de los ensayos se iniciaron salidas de campo para coleccionar material vegetal fresco.

Se seleccionaron aquellas ramas y hojas donde estaban presentes chinches adultas y/o ninfas y en ocasiones en donde la presencia de la chinche no era visible por distintos factores (ej. días posteriores a una precipitación) se extrajeron muestras de las partes más altas de la copa de los árboles mediante cortes con una pértiga. El material recolectado fue colocado en bolsas de plástico y rotulado hasta su acondicionamiento en el laboratorio.

El material fresco fue coleccionado en diferentes sitios ubicados en la provincia de Buenos Aires (Castelar, Jáuregui y 25 de Mayo) y corresponden a ensayos clonales, plantaciones lineales y lotes comerciales de *E. dunnii*, *E. viminalis*, y *E. camaldulensis* donde previamente (2014-2016) fue liberado el parasitoide (Fig. 9).



A



B

Figura 9: A) Plantación de *E. viminalis* en Castelar, B) Plantación de *E. dunii* en Jáuregui.

El objetivo de mantener la cría de la chinche del eucalipto de manera estacional y experimental fue abastecer de huevos de edad conocida (insumo necesario para la multiplicación en laboratorio del parasitoide) y almacenar los mismos en frío para la realización de los ensayos requeridos en esta tesis.

Cría de *T. peregrinus*

La cría de la chinche consistió en el armado de unidades de producción renovadas 3 veces por semana y contenidas dentro de una jaula con paredes, techo de voile y mantenidas bajo condiciones controladas ($24\pm1^{\circ}\text{C}$, $70\pm10\%$ HR y fotoperiodo 12:12). Cada unidad de producción consistió en un florero con 3-4 ramas de *E. dunii* y *E. viminalis* cargadas con 50-70 adultos ($\text{♀}\text{♂}$) de *T. peregrinus*.

El armado de floreros consistió en esterilizar sus hojas con algodón humedecido en agua, ubicarlos en un Erlenmeyer con agua, rotular el florero y sellar la base con goma espuma (Fig. 10). Sobre estas ramas se colocaron tiras de papel tisú para la oviposición. Luego de 24-48 horas las tiras de papel tisú con huevos de *T. peregrinus* (Fig. 11), fueron extraídas de los floreros, colocadas en bolsas de plástico rotuladas y almacenadas en heladera con temperatura de $8\pm2^{\circ}\text{C}$.



Figura 10: Colonia de *T. peregrinus* sobre floreros con material fresco recolectado a campo (INTA Castelar, IMYZA)



Figura 11: Tiras de papel tisú con huevos de *T. peregrinus*, extraídas de los floreros 24-48 hs después de la exposición.

Cría de *C. noackae*

La multiplicación del parasitoide fue iniciada con material colectado en campo donde se seleccionaron hojas con presencia de huevos, en base a la madurez de los mismos, recolectando aquellos que presentaran un aspecto brillante y oscuro indicando huevos aun no eclosionados (Fig. 12). Las hojas colectadas en campo fueron observadas bajo lupa y aquellas con presencia de huevos sin eclosionar fueron acondicionadas en recipientes de vidrio (10x21 cm) y colocadas en una cámara de cría con condiciones ambientales controladas ($24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ HR y fotoperiodo 12:12) hasta la obtención de parasitoides adultos (Fig. 13).



Figura 12: Recolección de huevos de *T. peregrinus* no eclosionados en plantación de *E. viminalis* (25 de Mayo).



Figura 13: Obtención de parasitoides adultos sobre material de campo.

Diariamente se observó la emergencia de adultos *C. noackae*. Huevos de 24-48 horas de *T. peregrinus* fueron ofrecidos a hembras de *C. noackae* previamente fecundadas. Luego de 17 días desde la exposición de los huevos se realizó una minuciosa observación y detección de nuevos parasitoides en los tubos de ensayos (Fig. 14)

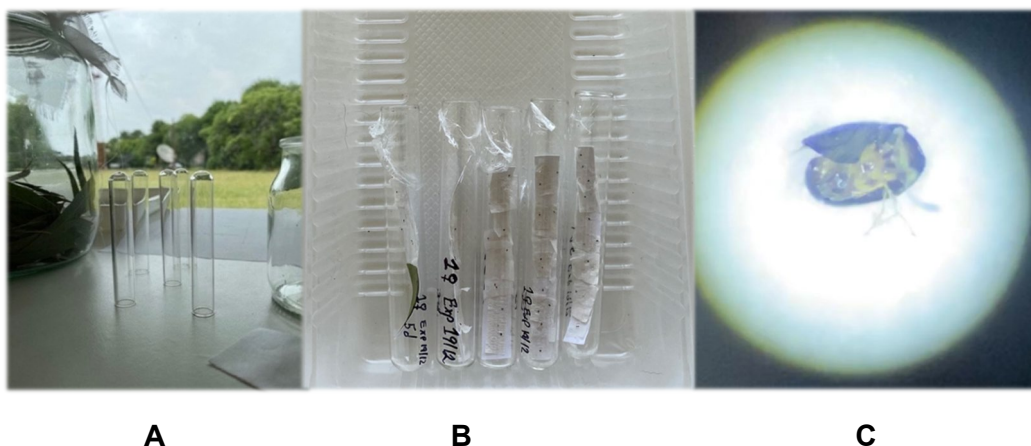


Figura 14: (A) Recolección de parejas de *C. Noackae*; (B) Tubos de ensayo con parejas de *C. noackae* y huevos frescos de *T. Peregrinus*; (C) Disección de huevo de *T. peregrinus* conteniendo en su interior un adulto de *C. noackae*.

Diseño del ensayo de almacenaje en frío

Los insectos (huésped y parasitoide) utilizados en esta tesis procedieron de las crías (anteriormente mencionadas) mantenidas en el Insectario de Investigaciones para Lucha Biológica del IMYZA, CICVyA - INTA Castelar. Los ensayos se realizaron en cámaras de cría bajo condiciones controladas (temperatura $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, humedad relativa $70\pm 10\%$ y fotoperiodo 12:12) y el almacenaje en frío se realizó en una heladera marca GAFA con freezer Mod. H61 356NL a $8\pm 2^{\circ}\text{C}$. Se evaluaron los siguientes tratamientos:

- **Control:** Huevos sin almacenaje en frío.
- **T1:** 5 días de almacenaje en frío.
- **T2:** 10 días de almacenaje en frío.
- **T3:** 20 días de almacenaje en frío.
- **T4:** 30 días de almacenaje en frío.

Para cada tratamiento se realizaron entre 10 y 20 réplicas. Cada réplica constó de una pareja ($\sigma^{\circ}\eta^{\circ}$) de adultos de *C. noackae*, los cuales fueron expuestos durante 24 horas a 10 huevos frescos de su huésped *T. peregrinus*. Cada pareja de *C. noackae* fue colocada en un tubo de ensayo de vidrio (10x75mm) con solución de agua-miel como alimento. Al cabo de este período de tiempo se extrajo la pareja y se dejaron los huevos en cámara de cría aproximadamente 15 a 17 días (tiempo de desarrollo del parasitoide a 24°C). Una vez emergidos los adultos se evaluó el parasitismo y la proporción sexual para cada tratamiento.

Posibles diferencias entre los tratamientos para las variables parasitismo y proporción sexual fueron analizadas mediante ANOVA de un factor (tratamientos) con $\alpha=0,05$ (InfoStat, 2010). Los supuestos de normalidad fueron comprobados por medio de la prueba de Shapiro-Wilks, y los supuestos de homocedasticidad por medio de la prueba de Levene. En los casos en que los supuestos del ANOVA no fueron cumplidos se aplicó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

El porcentaje de parasitismo fue medido como el cociente entre el número de adultos de *C. noackae* sobre el número total de huevos de *T. peregrinus* y la proporción sexual fue medida como el cociente entre el número de hembras sobre la suma del número de η° y el número de σ° multiplicado por 100.

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemíptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El éxito de los programas de control biológico con parasitoides de huevos como hospedadores depende de la capacidad de producir estos enemigos naturales en grandes cantidades para combatir los problemas de plagas. El almacenamiento de los huevos del huésped durante diferentes períodos de tiempo puede ayudar a sincronizar la producción de parasitoides con la demanda. A partir de la información obtenida en los ensayos, se analizó la capacidad del parasitoide *C. noackae* de parasitar con éxito los huevos de *T. peregrinus* almacenados en frío durante distintos periodos de tiempo, así como también la proporción sexual de los individuos de la F1.

Se observó que no existe un efecto significativo de los días de almacenamiento en frío sobre el porcentaje de parasitismo ($H_{(4,84)} = 4,93$; $P = 0,2742$). La tendencia fue que los días prolongados de almacenamiento en frío (30 días) presentaron un efecto negativo disminuyendo el porcentaje de parasitismo a medida que se aumenta el tiempo de conservación. La Figura 15 muestra el parasitismo de *C. noackae* en función de los distintos tiempos de almacenaje en frío. En esta figura, se observa que el almacenaje en frío de huevos de *T. peregrinus* durante 10 días obtuvo porcentajes de parasitismo de $25 \pm 5,3\%$, (media $\pm$ E.E.), siendo los valores más altos obtenidos.

Para este tratamiento, el máximo valor registrado fue de 70% ($n=20$). El porcentaje de parasitismo promedio obtenido para el tratamiento de 20 días fue de $16,47 \pm 3,5\%$ (media $\pm$ E.E.) y para el tratamiento de 30 días el parasitismo fue de $12 \pm 5,12\%$ (media $\pm$ E.E.) (Fig. 15). Tanto el tratamiento de 20 días ($n=17$) como el de 30 días ($n=10$) el rango máximo de parasitismo alcanzado por replica fue de 40%.

Barbosa et al., (2018) estudiaron el efecto del almacenamiento en frío (5°C) durante 14 días de huevos de *T. peregrinus* sobre el parasitismo de *C. noackae* y observaron que no hubo diferencias significativas entre el tratamiento control y 14 días y entre 14 días y 33 días de almacenamiento a 5°C ($F_{1,28} = 2.0578$, $P = 0.1652$). Los valores fueron similares entre si, siendo el parasitismo para huevos almacenados durante 14 días $30.67 \pm 0.09\%$ (media $\pm$ E.E.) y para huevos sin almacenar de $42.00 \pm 6.26\%$ (media $\pm$ E.E.).

El parasitismo similar de los huevos de *T. peregrinus* por *C. noackae* después del almacenamiento con respecto al control muestra que la calidad del huevo de este huésped podría mantenerse después del almacenamiento a esta temperatura. Sin embargo para el parasitoide *Habrobracon hebetor* se encontró que el parasitismo sobre

larvas de *Plodia interpunctella* disminuyo con el incremento en los días de almacenamiento, registrando porcentajes de 44% a los 3 días y de 90 % a 24 horas de almacenamiento (Morales - Perdomo, Rodriguez - Caicedo, & Cantor - Rincón, 2018). Luczynski y Shi (2007) y Leopold (1998) sugieren que esto se debe a que el almacenamiento en frío induce estrés oxidativo en las células, reduciendo las actividades metabólicas, lo que induce deshidratación y anoxia (falta o disminución de oxígeno en las células) perjudicando la calidad del huevo.

Spínola Filho (2014) reporto que los tiempos de almacenamiento más prolongados pueden provocar una disminución de la calidad de los embriones.

Asimismo, las hembras de algunas especies de parasitoides pueden rechazar los huevos de su huésped cuando presentan estímulos químicos y físicos alterados (Soares, Torres-Gutierrez, Zanuncio, Pedrosa, & Lorenzon, 2009) como la presencia de crio protectores como el glicerol y alanina (Rivers, Lee, & Denlinger, 2000). Estas sustancias contenidas en los huevos tienen la finalidad de resistir el enfriamiento.

No existen estudios que comprueben la presencia de crio protectores en los huevos de *T. peregrinus*, sin embargo, futuras investigaciones debieran contemplar el estudio de este fenómeno y otras alteraciones fisicoquímicas en respuesta a las bajas temperaturas utilizadas para el almacenaje.

Dentro de las defensas fisiológicas el principal ataque del huésped es la respuesta inmune innata que en el caso de los endoparasitoides implica que la larva del parasitoide sea encapsulada por lo que podría ocurrir que, a mayor desarrollo del embrión, esta defensa por parte del huésped este más desarrollada provocando el rechazo del parasitoide. Además, los huevos se pueden encontrar con estresores en el ambiente que pueden incluir lesiones, o factores abióticos como fluctuaciones en la temperatura y cambios en la disponibilidad de nutrientes, que pueden afectar su estado fisiológico y en consecuencia su calidad como recurso alimenticio (Holmstrup et al., 2010). Por lo que a mayores tiempos de almacenamiento se corre un mayor riesgo de exposición de los huevos a fluctuaciones de temperatura y/o lesiones (Barrantes, 2015).

La "dosis de exposición al frío" es una combinación de duración de exposición y temperatura. Cuando la dosis de exposición al frío aumenta y supera un umbral específico, las lesiones por frío se acumulan y se vuelven progresivamente irreversibles disminuyendo la calidad del huevo (Kostal, Vambera, & Bastl, 2004).

Con respecto a los ensayos de Spínola Filho (2014) sobre los efectos de la duración del almacenamiento en frío de los huevos de *Anagasta kuehniella* sobre y el porcentaje de parasitismo de diez especies de *Trichogrammatidae*, hay dos especies en particular que coinciden con los resultados de esta investigación. Se tratan de *Trichogramma galloi* y *Trichogramma soares*.

T. galloi mostró las tasas más altas de parasitismo (57%) por tarjeta con huevos durante 5 días de almacenamiento en frío. Lo mismo se observó en este caso con el parasitismo de *C. noackae* sobre los huevos de *T. peregrinus* siendo 5 días (n=17) y 10 días (n=20) de almacenamiento en frío los tratamientos con mayores porcentajes de parasitismo (24% y 25%, respectivamente) y mayores rangos alcanzados (T5: min:0% max: 60% y T10: min:0% max: 70%).

En los resultados aquí obtenidos existió una gran variabilidad entre los tratamientos, lo cual podría explicar la falta de diferencia estadística mencionada anteriormente. La inclusión de un mayor número de réplicas en cada tratamiento posiblemente permitiría alcanzar niveles de significancia para confirmar la tendencia observada.

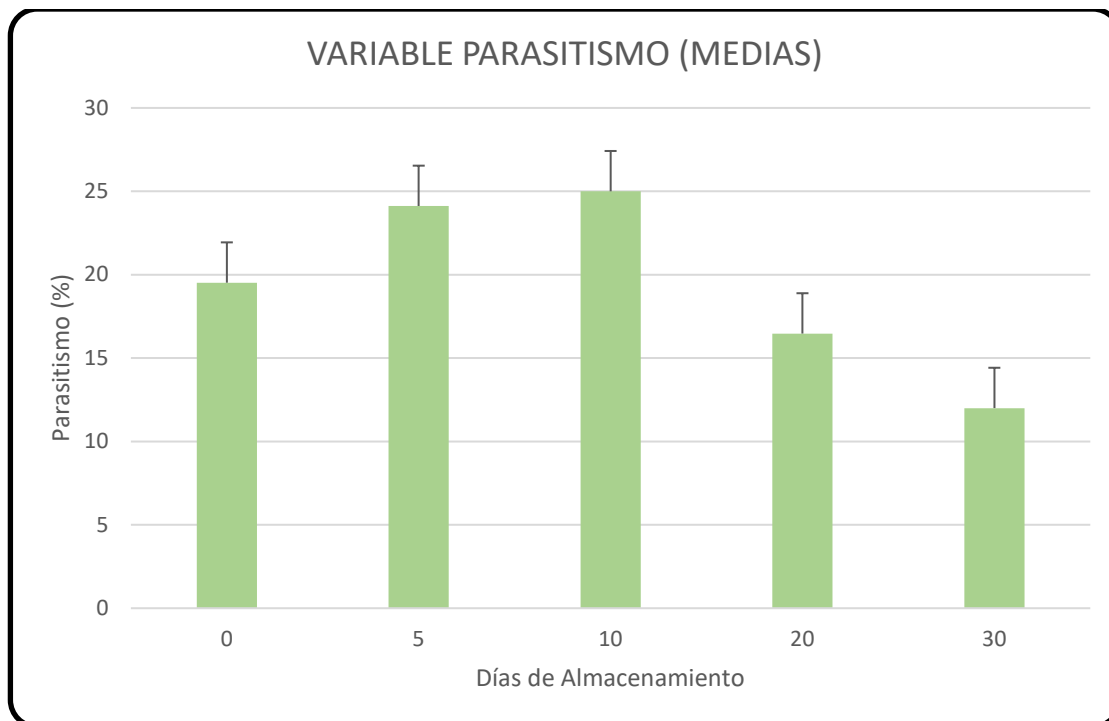


Figura 15: Porcentaje de parasitismo de *C. noackae* sobre huevos de *T. peregrinus* almacenados a $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante distintos períodos de tiempo.

En cuanto a la variable proporción sexual los resultados sugieren que no existe un efecto significativo de los días de almacenamiento en la cantidad de hembras producidas ($H_{4,48} = 2,71$; $P = 0,5562$) lo que implica que la proporción sexual de la descendencia no se vio afectada por el almacenaje en frío y en general se aproximó al 60% (Fig. 16).

Barbosa et al., (2018) estudiaron el efecto del almacenamiento en frío (5°C) durante 14 días de huevos de *T. peregrinus* sobre la proporción sexual de la F1 y observaron que la proporción sexual de emergencias en los huevos almacenados en frío ($53 \pm 9\%$) no difería ($F_{1,26} = 1.1994$, $P = 0.2835$) de la proporción sexual de huevos sin almacenar ($69 \pm 9\%$), es decir que los huevos de *T. peregrinus* almacenados a bajas temperaturas (5°C) no afectaron la proporción sexual de *C. Noackae*.

Por otro lado, se demostró que los huevos de *Riptortus perestris* pueden almacenarse a 2°C durante un máximo de dos meses sin afectar la proporción sexual del parasitoide *Ooencyrtus nezarae* Ishii (Alim & Lim, 2011).

Además, el parasitismo de *Trissolcus nigripedius* sobre huevos de *Dolycoris baccarum* almacenados a 2°C , hasta dos meses de almacenamiento, tampoco tuvo efectos sobre la proporción sexual de la descendencia (Mahmoud & Lim, 2007).

Wilcken et al., (2017) estudiaron la proporción sexual de la descendencia de *C. noackae* sobre huevos de *T. peregrinus* de 24 horas de edad y observaron que la proporción sexual de *C. noackae* en el laboratorio y en el campo fue 69% y 65% respectivamente siendo similar a los resultados obtenidos en este estudio donde la proporción sexual para el tratamiento control (huevos de 24 horas de edad) fue de 61,93% no encontrándose diferencias con el tiempo de almacenaje en frío.

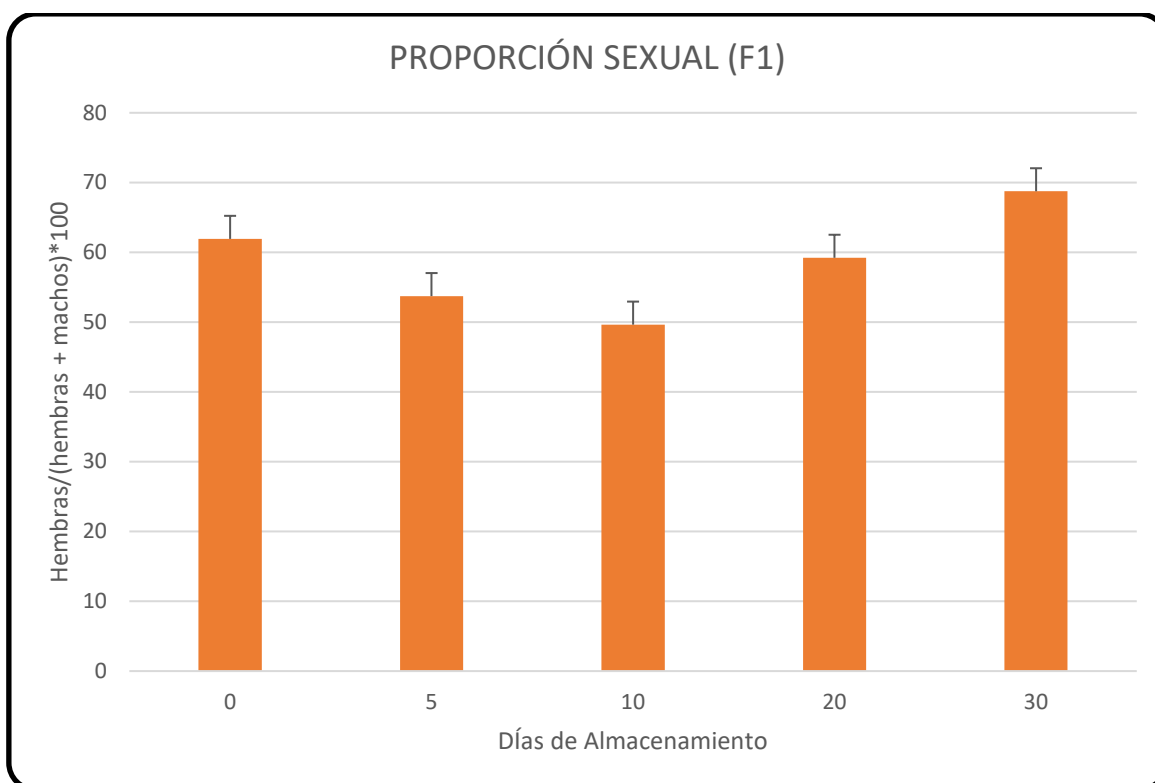


Figura 16: Proporción sexual (media $\pm$ E.E.) de *Cleruchoides noackae* en función de los días de almacenaje en frío de los huevos del huésped *T. peregrinus*.

Los resultados obtenidos en esta investigación aportan información valiosa ya que contar con un periodo de almacenamiento permite tener un margen de tiempo entre el proceso de producción de la plaga y la obtención del parasitoide. En este sentido contar con entre 10 y 20 días de almacenaje permite optimizar la producción en laboratorio y brinda una ventana de tiempo más amplia para efectuar las liberaciones del parasitoide en el campo.

Se observó gran variabilidad en los datos obtenidos, esto pone una alerta para que las futuras investigaciones deban contemplar aumentar el número de réplicas para disminuir el error estándar y de este modo lograr diferencias significativas entre los tratamientos.

La información hasta aquí brindada sugiere la importancia de repetir este ensayo en un futuro próximo. Asimismo, se contempla el estudio de distintas temperaturas de almacenaje para los mismos tiempos probados en este estudio.

CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir lo siguiente:

- Largos periodos de almacenamiento de 20 y 30 días arrojaron los menores valores de parasitismo.
- La tendencia observada muestra que el almacenaje en frío más apropiado para conservar huevos de *T. peregrinus* para su posterior parasitismo de *C. noackae* fue el de 10 días.
- La proporción sexual de la descendencia no se vio afectada por el almacenaje en frío y en general fue ligeramente sesgada hacia las hembras.

BIBLIOGRAFÍA

- Alim, M., & Lim, U. (2011). Refrigerated eggs of Riptortus pedestris (Hemiptera: Alydidae) added to aggregation pheromone traps increase field parasitism in soybean. *J. Econ. Entomol.* 104: 1833-1839.
- Andorno, A. V., Botto, E. N., & Hernandez, C. M. (2017). Plagas de Eucalyptus spp. en Argentina: Situación actual y avances para su control. *7º Congreso Forestal Español - Gestion del monte: Servicios ambientales y bioeconomia*, 7CFE01-496. 1-2.
- Barbosa, L. R., Wilcken, C. F., Soliman, E. P., Nogueira-de-Sá, L. A., Ribeiro-Dias, T. K., Ferreira-Filho, P. J., & Rodrigues-Oliveira, R. J. (2010). Bronze bug Thaumastocoris peregrinus Carpintero y Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on eucalyptus in Brazil and its distribution. *Journal of plant protection research*, Vol. 50, Nº 2. 201-205.
- Barbosa, L., Souza, A., Foerster, L., & Monteiro-Castro e Castro, B. (2018). Development of Cleruchoides noackae, an egg-parasitoid of Thaumastocoris peregrinus, in eggs laid on different substrates, with different ages and post-cold storage. *BioControl* 63(1), Doi: 10.1007/s10526-017-9863-3. 1-11.
- Barrantes, M. (2015). Influencia de la calidad del hospedador y de la competencia por recursos energéticos durante la ontogenia sobre el estado fisiológico y el éxito reproductivo del parasitoide Mallophora ruficauda (Diptera: Asilidae). *Biblioteca digital FCEN - UBA*. 1-30.
- Beale, I., & Ortiz, E. C. (2013.). El sector Forestal Argentino: Eucaliptos. *Divulgación Técnica Agrícola y Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agrarias - UNCa*, 53: 1852-7086.

- Benelli, M., Marchetti, E., & Dindo, M. (2017). Effects of storage at suboptimal temperatures on the in vitro-reared parasitoid *Exorista larvarum* (Diptera: Tachinidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(4), 1476–1482.
- Botto, E. N., Andorno, A. V., Cuello, E. M., & Hernandez, C. M. (2015). Avances en el Control Biológico de *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero y Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) por el parasitoide importado *Cleruchoides noackae* Lin & Huber (Hymenoptera: Mymaridae), en la Argentina. *XXIX Jornadas Forestales de Entre Rios Concordia*.
- Cuello, E. (2019). Estudio de la diversidad de insectos asociados a las principales plagas de *Eucalyptus* spp., para la selección de potenciales agentes de control biológico. *Tesis Doctoral de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Biológicas*, 10-71.
- Carvalho Spínola - Filho, P., Demolin - Leite, G., Soares - Alvarenga, M., Costa - Alvarenga, A., De paulo, P., Tuffi - Santos, L., & Zanuncio, J. (2014). Effects of Duration of Cold Storage of Host Eggs on Percent Parasitism and Adult Emergence of Each of Ten Trichogrammatidae (Hymenoptera) Species. *Florida Entomologist* 97(1): 14-21, Doi: /full/10.1896/054.097.0102.
- Cross, D. (2009). The parasitoids of *Thaumastocoris* spp. in the Sydney region. *M.Sc. thesis, Department of Food and Natural Resources, University of Sydney, Australia*.
- Ehler, L. (2006). Perspectives integrated pest management (IPM): definition, historical development and implementation, and the other IPM. *Pest Management Science*, 62 (9): 787-789.

- FAO. (2011). Buenas prácticas de protección de la sanidad forestal. *Guía para la aplicación de normas fitosanitarias en el sector forestal, Capitulo N°3*, 19-23.
- Fischbein, D. (2012). *Introducción a la teoría del control biológico de plagas - cuadernillo N° 15*. San Carlos de Bariloche, Río Negro.: Cambio Rural – Laboratorio de Ecología de Insectos, INTA EEA Bariloche.
- Granados-Sánchez, D., & López-Ríos, G. (2007). Fitogeografía y ecología del género *Eucalyptus*. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 13(2): 143-156.
- Holmstrup, M., Bindesbøl, A., Oostingh, G., Duschl, A., Scheil, V., & Köhler, H. (2010). Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review. *Science of the Total Environment*, 408: 3746-3762.
- Ide, S. M., Ruiz, G. C., Sandoval, C. A., & Valenzuela, E. J. (2011). Detección de *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae) asociado a *Eucalyptus* spp. en Chile. *Bosque*, 32: 309–313.
- Jacobs, D., & Nesser, S. (2005). *Thaumastocoris australicus* Kirkaldy (Heteroptera: Thaumastocoridae): a new insect arrival in South Africa, damaging to *Eucalyptus* trees. *South African Journal of Science*, 101: 233-236.
- Kogan, M. (1998). Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review of Entomology*, 43: 70-243.
- Kostal, V., Vambera, J., & Bastl, J. (2004). On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. *J. Exp. Biol.* 207: 1509-1521.

- Larocca, F., Aparicio, J., & Dalla-Tea, F. (2005). Manejo Intensivo de Forestaciones de Eucaliptos. *Calidad y productividad* , 1-3.
- Laudonia, S., & Sasso, R. (2012). The bronze bug *Thaumastocoris peregrinus*: a new insect recorded in Italy, damaging to *Eucalyptus* trees. *Bulletin of Insectology*, 65: 89-93.
- Leopold, R. (1998). Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest Management. . En *Cold storage of insects for integrated pest management*. (pag. 235-267). Westview Press. Colorado, EE. UU. 311 p. Hallman, G. J.; Denlinger, D. L.
- Lopez, G. A. (2010). Domesticación y cultivo de eucalipto. *Centro de Investigación Forestal ENCE Ctra A-5000 km 7,5 CP 21007 Huelva España, Boletín del CIDEU 8-9: 83-95, ISSN 1885-5237, 84-85.*
- Luczynski, A., & Shi, J. (2007). Influence in cold storage on pupal development and mortality during storage and on post - storage performance of *Encarsia formosa* and *Eretmocerus eremicus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Biological Control* 4: 107-117.
- MAGyP. (2019). Forestar 2030. *Ministerio de Agricultura Ganaderia y Pesca*, <http://www.afoa.org.ar/web/PublicacionForestales-11Dic2019.pdf>, 1-17.
- MAGyP. (2020). *Subsecretaria de desarrollo Foresto Industrial*. Obtenido de Foresto Industria, MAGyP, <http://forestoindustria.magyp.gob.ar/archivos/normativas/ley25080.pdf>.

- Mahmoud, A., & Lim, U. (2007). Evaluation of cold-stored eggs of *Dolycoris baccarum* (Hemiptera: Pentatomidae) for parasitization by *Trissolcus nigripedius* (Hymenoptera: Scelionidae). *Biol Control* 43: 287-293.
- Martinez, G., Gonzalez, A., & Dicke, M. (2018). Rearing and releasing the egg parasitoid *Cleruchoides noackae*, a biological control agent for the Eucalyptus bronze bug. *Biological Control*, 123: 97-104, www.elsevier.com/locate/ybcon.
- Martinez, G., Lopez, L., Cantero, G., Gonzalez, A., & Dick, M. (2014). Life history analysis of *Thaumastocoris peregrinus* in a newly designed mass rearing strategy. *Bulletin of Insectology*. 67(2): 199-205.
- Morales - Perdomo, J., Rodriguez - Caicedo, D., & Cantor - Rincón, F. (2018). Efecto de diferentes temperaturas y tiempos de conservación sobre pupas de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae). *Revista Colombiana de Entomología* 44 (2): 217-222, Doi: 10.25100/socolen.v44i2.7323.
- Mutitu, E., Garnas, J., Hurley, B., Wingfield, M., Harney, M., Bush, S., & Slippers, B. (2013). Biology and Rearing of *Cleruchoides noackae* (Hymenoptera: Mymaridae), an Egg Parasitoid for the Biological Control of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae). *Journal of economic entomology*, Doi: <http://dx.doi.org/10.1603/EC13135> , Vol. 106, (5): 1979-1985.
- Nadel, R. L., & Noack, A. E. (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, Doi: 10.1080/09670874.2012.659228.
- Nadel, R. L., Slippers, B., Scholes, M. C., Lawson, S. A., Noack, A. E., Wilken, C. F., Wingfield, M. J. (2010). DNA bar-coding reveals sources and patterns of

Thaumastocoris peregrinus invasions in South Africa and South America. *Biol. Invasions* 12: 1067-1077.

- Noack, A., & Coviella, C. (2006). Thaumastocoris australicus Kirkaldy (Hemiptera: Thaumastocoridae): first record of this invasive pest of Eucalyptus in the Americas. *General and Applied Entomology* 35: 13-14.
- Noack, A., & 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.
- Noack, A., & Rose, H. (2007). Lifehistory of Thaumastocoris peregrinus and Thaumastocoris sp. in the laboratory with some observations on behaviour. *General and Applied Entomology*, 36: 27–33.
- Noack, A., Cassis, G., & Rose, H. (2011). Systematic revision of Thaumastocoris Kirkaldy (Hemiptera: Heteroptera: Thaumastocoridae). *Zootaxa*, 3121: 1–60.
- Noack, A., Kaaparo, J., Bartimote-Aufflick, K., Mansfield, S., & 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.
- Potts, B., Vaillancourt, R., Jordan, G., Dutkowski, G., Costa e Silva, J., McKinnon, G., Borralho, N. (2004). Exploration of the Eucalyptus globulus gene pool. *Proceedings of the International IUFRO Conference of the WP2.08.03 on Silviculture and Improvement of Eucalyptus. Aveiro, Portugal*, 46-61.
- Rathee, M., & Ram, P. (2018). Impact of cold storage on the performance of entomophagousinsects: an overview. *Phytoparasitica*, ISSN 0334-212 , Doi 10.1007/s12600-018-0683-5.

- Rezaei, M., Talebi, A., Fathipour, Y., Karimzadeh, J., Mehrabadi, M., & Dindo, M. (2020). Effects of constant low-temperature storage on the performance of a commercial strain of *Aphidius colemani*. *Bulletin of Insectology* 73 (1): 125-135.
- Rivers, D., Lee, R., & Denlinger, D. (2000). Cold hardiness of the fly pupal parasitoid *Nasania vitripennis* is enhanced by its host *Sarcophaga crassipalpis*. *J. Insect Physiol.* 46: 99-106.
- SAGyP; INTA, Concordia. (1995). *Manual para productores de eucaliptos de la mesopotamia Argentina - Subsecretaría de Producción Agropecuaria y Mercados INTA - Estación Experimental Agropecuaria Concordia*. Buenos aires, SAGyP - Subsecretaría de Producción Agropecuaria y Mercados INTA - Estación Experimental Agropecuaria Concordia.: Carpineti, Luis A.; Dalla-Tea, F.; Glade, Jorge E.; Marco, Martin A.
- Santadino, M. (15 de Agosto de 2019). Estudios bionómicos y de dinámica poblacional para el manejo de *Thaumastocoris peregrinus*, especie invasora plaga de *Eucalyptus* spp. en Argentina. *Facultad de Ciencias Naturales y Museo Universidad Nacional de La Plata*, 10-130. Obtenido de Repositorio Insitucional de la UNLP.: <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/79178>.
- Schnell e Schühli, G., Penteado, S. C., Barbosa, L. R., Filho, W. R., & Iede, E. T. (2016). A review of the introduced forest pests in Brazil. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 51 (5): 397-406.
- Secretaria De Política Económica. (2019). *Informes de Cadena de Valor - Forestal, papel y muebles*. Buenos Aires: Ministerio de Hacienda, Presidencia de la Nación, Año 4 N° - 14, N 2525-0221.

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo

- Soares, M., Torres-Gutierrez, C., Zanuncio, J., Pedrosa, A., & Lorenzon, A. (2009). Super- parasitismo de *Palmistichus elaeisis* (Hymenoptera: Eulophidae) y comportamiento de defensa de dos hospederos. *Revista Colombiana Entomol.* 35: 62-65.
- Soliman, E. P., Wilcken, C. F., Pereira, J. M., Dias, T., Zache, B., Pogetto, D., & Barbosa, L. (2012). Biology of *Thaumastocoris peregrinus* in different *Eucalyptus* species and hybrids. *Phytoparasitica* 40:223-230.
- Soliman, E., Wilcken, C., Monteiro - Castro e Castro, B., & Firmino, A. (2018). Susceptibility of *Thaumastocoris peregrinus* (Hemiptera: Thaumastocoridae), a *Eucalyptus* pest, to entomopathogenic fungi. *Entomology, Sci. Agric.* v.76, n.3, *Doi: org/10.1590/1678-992X-2017-0043*, 255-260.
- Souza, G., Pilkart, T., Serrão, F., Wilcken, C., & 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.
- Tenhumberg, B., Siekmann, G., & Keller, M. (2006). Optimal time allocation in parasitic wasps searching for hosts and food. *Oikos* 113: 121-131.
- Van Driesche, R. (2017). Tipos de enemigos naturales, Capítulo 3: Diversidad y ecología de los parasitoides. *Control de plagas y malezas por enemigos naturales*, 12-30.
- Van Driesche, R., & Bellows, T. (1996). Biological Control. *Chapman & Hall*. 539 p.

Efecto del almacenaje en frío de huevos de Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) sobre el parasitoide Cleruchoides noackae (Hymenoptera: Mymaridae)

Ferrari Ostry, Máximo

- Wilcken, C., Barbosa, L., Velozo, S., Becchi, L., Junqueira, L., de Sá, L., & Zanuncio, J. (2017). Biological Control of Thaumastocoris peregrinus (Hemiptera: Thaumastocoridae) in Eucalyptus Plantations in Brazil. *Proceedings of the 5th International Symposium on Biological Control of Arthropods* (eds. P.G. Mason, D.R. Gillespie and C. Vincent), 105-107.
- Wilcken, C., Soliman, P., Nogueira-de-sa, L., Barbosa, L., Dias, T., Ferreira-Filho, P., & Oliveria, R. (2010). Bronze bug, Thaumastocoris peregrinus Carpintero and Dellapé (Hemiptera: Thaumastocoridae) on Eucalyptus in Brazil and its distribution. *J. Plant Prot. Res.* 50: 201-205.