

**RELEVAMIENTO DEL PARASITOIDISMO ESPONTANEO DE HUEVOS DE
LEPIDOPTEROS EN VARIEDADES DE SOJA RR Y RR IPRO EN EL PARTIDO DE
PERGAMINO**

Trabajo Final de Grado
del alumno



**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales.
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires.**

Pergamino,.....

**RELEVAMIENTO DEL PARASITOIDISMO ESPONTÁNEO DE HUEVOS DE
LEPIDOPTEROS EN VARIEDADES DE SOJA RR Y RR IPRO EN EL PARTIDO DE
PERGAMINO**

Trabajo Final de Grado

del alumno

EMANUEL FERRAND

Aprobada por el Tribunal Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Evaluador

(Nombre y Apellido)
Co-Director

(Nombre y Apellido)
Director

**Escuela de Ciencias Agrarias, Naturales y Ambientales,
Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires**

Pergamino,.....

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a mis padres por el apoyo brindado a lo largo de todo este tiempo y por darme la posibilidad de formarme como profesional.

A mi Director Lic. Juan Martín Peña y Codirector Ing. Carolina Sgarbi por ayudarme y guiarme durante todo este camino.

Al grupo de Forrajeras de INTA Pergamino, por permitirme un espacio donde poder desarrollar parte de las actividades de la tesis, y además por la cordialidad y buena voluntad que siempre me brindaron.

Por último pero no menos importante, no quiero dejar de agradecer a mi novia, mis amigos y familiares que estuvieron cerca mío durante todo este tiempo, mi más sincero agradecimiento.

ÍNDICE

Primer portada.....	i
Segunda portada.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
ÍNDICE.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	13
OBJETIVO GENERAL.....	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXO I	
<i>Pyrgus</i> sp.....	42
ANEXO II	
Proporción de sexos.....	45
ANEXO III	
Seguimiento de huevos de <i>Chrysoperla</i> spp. (Steinmann).....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Distribución de huevos colectados por especie.....	21
Tabla 2. Número de huevos - Medias ajustadas y errores estándares para cada tratamiento.....	21
Tabla 3. Densidad total de huevos de las especies <i>R. nu</i> y <i>A. gemmatalis</i> , durante los estados vegetativos y reproductivos, para cada cultivar.....	22
Tabla 4. Número de huevos parasitoidizados - Medias ajustadas y errores estándares para cada tratamiento.....	25
Tabla 5. Análisis de la Varianza para la proporción de sexos de los parasitoides según la especie hospedante.....	46
Tabla 6. Análisis de la Varianza para las poblaciones de huevos de crisopas encontradas en cultivos de soja <i>Bt</i> y <i>No Bt</i>	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de acción de proteínas Cry en insectos lepidópteros (Extraído de Sauka y Benintende, 2008).....	4
Figura 2. Evolución de la superficie sembrada en Argentina con soja, maíz y algodón genéticamente modificados, expresada como porcentaje de sus respectivas áreas totales (Trigo, 2016).....	5
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Trichogramma</i> spp. (Extraído de Knutson, 1998).....	11
Figura 4. . Plano del ensayo. Imagen extraída de Google Earth (Google, 2018).....	14
Figura 5. Siembra de macetas para la obtención de plantas centinela.....	16
Figura 6. Recolección de trampas de luz de adultos de <i>A. gemmatalis</i> y <i>R. nu</i>	17
Figura 7. Jaulas para mantención de adultos de lepidópteros y obtención de plantas centinela.....	17
Figura 8. Plantas centinelas instalada a campo y con oviposición visible.....	18
Figura 9. Curva de acumulación de huevos de especies de lepidópteros en cultivar <i>Bt</i> y No <i>Bt</i>	20
Figura 10. Número de huevos obtenidos en la colecta de folíolos.....	21
Figura 11. Distribución de huevos de las especies <i>R. nu</i> y <i>A. gemmatalis</i> , durante los estados vegetativos y reproductivos, en los cultivares <i>Bt</i> y No <i>Bt</i>	23

Figura 12. Parasitoidismo obtenido para cada fecha de monitoreo en cultivar <i>Bt</i> y No <i>Bt</i> como en malezas (representado fundamentalmente por Malva).....	24
Figura 13. Parasitoidismo total por cultivar (<i>Bt</i> y No <i>Bt</i>) y en malezas (Malva).....	25
Figura 14. Parasitoidismo y número de huevos obtenidos en cada fecha de monitoreo para la especie <i>R. nu</i>	26
Figura 15. Parasitoidismo y número de huevos obtenidos en cada fecha de monitoreo para la especie <i>A. gemmatalis</i>	26
Figura 16. Parasitoidismo y número de huevos obtenidos en cada fecha de monitoreo para la especie <i>Pyrgus</i> sp.....	27
Figura 17. Oviposición de <i>Pyrgus</i> sp. en Malva.....	29
Figura 18. 1) Huevos de <i>A. gemmatalis</i> parasitoidizados en laboratorio por parasitoides emergidos de huevos de <i>Pyrgus</i> sp. 2) Huevos de <i>R. nu</i> parasitoidizados en laboratorio por parasitoides emergidos de huevos de <i>Pyrgus</i> sp.....	30
Figura 19. Ciclo biológico <i>Pyrgus</i> sp. en Pergamino. 1) Huevo. 2) Larva. 3) Crisálida. 4) Adulto.....	44
Figura 20. Proporción de sexos de los parasitoides encontrados para cada especie hospedante encontrada.....	47
Figura 21. Ciclo biológico <i>Chrysoperla</i> spp. (Extraído de Smith y Hagen, 1956).....	49
Figura 22. Huevo eclosionado de <i>Chrysoperla</i> spp.....	49
Figura 23. Plano del ensayo. Imagen extraída de Google Earth (Google, 2018).....	51

Figura 24. Numero de huevos colectados para cada fecha de monitoreo en cada cultivar
(*Bt* y No *Bt*).....52

RESUMEN.

La soja *Glycine max* (L.) Merrill es una especie anual y herbácea, cultivada por sus semillas ricas en proteínas (37 a 43%) y por ser fuente valiosa de aceite (18%). Es el cultivo más importante en superficie sembrada de la Argentina. Después del algodón, la soja es el cultivo que sufre los mayores ataques de plagas animales, especialmente los insectos pertenecientes al Orden Lepidoptera. Las larvas de este orden son polívoras y pueden atacar al cultivo desde etapas muy tempranas, comportándose como cortadoras, defoliadoras, barrenadores, consumir brotes y tallos tiernos o vainas y granos en formación. La estrategia de manejo más utilizada contra esta plaga es el control químico, aunque con ello, se presentan algunas desventajas como daño a la salud ambiental. Como alternativa de manejo sustentable, se aprueba en el año 2012, la comercialización de la primera soja transgénica resistente a insectos y tolerante a herbicidas. La adopción de este cultivo transgénico podría modificar los agroecosistemas, exigiendo vigilar su posible efecto sobre el nicho ecológico actual de la soja y el impacto sobre los organismos no blanco. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la soja genéticamente modificada (*Bt*-RR) sobre el control biológico espontáneo ejercido por los parasitoides oófagos de lepidópteros, en el partido de Pergamino, Provincia de Buenos Aires. El ensayo se realizó en el predio de ECANA UNNOBA (33°56'20,54" S; 60°33'31,55" O), durante la campaña agrícola 2017-2018. Se sembraron dos parcelas, una con soja No *Bt* y otra con soja *Bt*. Se establecieron 12 estaciones de monitoreo por parcela, las cuales fueron consideradas como repeticiones. Semanalmente se recolectaron huevos de lepidópteros en plantas tomadas al azar, así como también de aquellos obtenidos de las plantas centinelas y del muestreo de malezas que escaparon al control químico. Se caracterizaron y se determinó el porcentaje de parasitoidismo presente. Las variables estudiadas fueron analizadas estadísticamente mediante el análisis de Modelos Generalizados Lineales Mixtos. La soja genéticamente modificada (*Bt*-RR) no genera un impacto sobre el control biológico espontáneo ejercido por los parasitoides oófagos de lepidópteros, ya que si bien existió una diferencia entre los tratamientos con soja *Bt* (0 %) y No *Bt* (11,4 %), no fue estadísticamente significativa. El cultivo de soja (*Bt*-RR) no modifica la conducta de oviposición de los adultos de lepidópteros. El parasitoidismo encontrado sobre huevos hallados en malezas fundamentalmente de la especie *Pyrgus* sp. fue alto (85,6 %), lo que refleja la preferencia de los parasitoides por esta especie. La

especie *Pyrgus* sp. actúa como un reservorio de parasitoides del género *Trichogramma* (Westwood), los que están en condiciones de parasitar huevos de las dos principales especies plagas en soja (*A. gemmatalis* y *R. nu*). El género *Trichogramma* fue el único encontrado parasitoidizando los huevos de lepidópteros en los distintos tratamientos.

Palabras clave: *Glycine max*, parasitoides, plantas centinelas, benéficos, organismos genéticamente modificados.

INTRODUCCIÓN.

La soja *Glycine max* (L.) Merrill es una especie anual y herbácea, de ciclo primavero estival, perteneciente al Orden Fabales, Familia Fabaceae, Subfamilia Papilionoideas. Es nativa del este asiático, cultivada por sus semillas ricas en proteínas (37 a 43%), su elevado valor nutricional y por ser fuente valiosa de aceite (18%) (Rosas y Young, 1991). El principal destino del grano es la industrialización para la elaboración de aceites y harinas. Dadas sus características nutricionales ocupa una posición intermedia entre las legumbres y los granos oleaginosos, conteniendo más proteínas que la mayoría de las legumbres, pero menos grasa que la mayor parte de las oleaginosas, lo que determina que sus semillas sean muy versátiles en cuanto a su uso y altamente demandadas alrededor del mundo (Mulin y Alvarez, 2004). En 2017, Argentina lideró las exportaciones mundiales de aceite de soja con 47 % del mercado global y el de harinas proteicas de soja con 50,5% del mercado internacional, además ocupó la tercera ubicación como exportador de porotos de soja (7,8% del total) (Gassalla, 2017). Estos números ponen en evidencia que el cultivo de soja representa una pieza clave para la economía del país, y así lo demuestra la evolución de la superficie sembrada en el último tiempo, la cual ha pasado de 37.700 ha en la década del 70 a 17.960.000 en 2017 (Pengue, 2001; Bolsa de Comercio de Rosario, 2018).

En el último tiempo, la región pampeana Argentina sufrió cambios en las prácticas culturales de los principales cultivos que condujeron a la simplificación del sistema productivo agrícola. Entre estos se destacan, la siembra directa, el uso de cultivares resistentes a glifosato, adopción de variedades de ciclo más corto, reducciones del espaciamiento entre líneas de siembra y modificaciones en las fechas de siembra, que alteraron la composición específica, el momento e intensidad de los ataques de diversos artrópodos plaga (Gamundi *et al.*, 2010; Perotti *et al.*, 2011).

Después del algodón, la soja es el cultivo que sufre los mayores ataques de plagas animales, especialmente los insectos pertenecientes al Orden Lepidoptera. Estos, si bien no se presentan todos los años, son una seria amenaza para el cultivo, sobre todo en años secos y con altas temperaturas que favorecen su desarrollo (Giuggia *et al.*, 2011).

Las larvas de este orden son polífagas y pueden atacar al cultivo desde etapas muy tempranas, comportándose como cortadoras, defoliadoras, barrenadores, consumir brotes y tallos tiernos o vainas y granos en formación, dependiendo del organismo en cuestión (Urretabizkaya *et al.*, 2010). Las especies de mayor importancia en el cultivo de soja, y que predominan en la región núcleo Argentina son la "oruga medidora" *Rachiplusia nu* (Guenée) y la "oruga de las leguminosas" *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). A estas, en las últimas campañas se han agregado la "oruga bolillera" *Helicoverpa gelotopoeon* Dyar (Lepidoptera: Noctuidae) y la "oruga del yuyo colorado" *Achyra bifidalis* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae) (Flores *et al.*, 2015).

La estrategia de manejo más utilizada contra esta plaga es el control químico. Su alta eficacia, disponibilidad, accesibilidad, facilidad de uso y costo, entre otras ventajas, hacen que los insecticidas sean usados frecuentemente, aunque muchas veces de manera innecesaria e irresponsable. Con ello, se presentan algunas desventajas como: contaminación ambiental, intoxicaciones de operarios y consumidores, aparición de poblaciones de insectos resistentes, pérdida de biodiversidad, entre los cuales se cuenta con enemigos naturales (predadores y parasitoides), inducción a tasas reproductivas más altas de la plaga (por utilización de dosis subletales), tiempos de desarrollo más cortos, rápida resurgencia de plagas y aumentos de poblaciones de artrópodos que normalmente no son plagas, lo que hace necesario la búsqueda de alternativas de manejo complementarias que sean menos perjudiciales con el medio (Van Drische, *et al.*, 2007; Lobos, 2010; Nicholls, 2010). Los cambios observados en el mercado de insecticidas se dieron en el marco de la búsqueda de productos de reducido impacto ambiental. Se intenta obtener productos que posean perfiles de toxicidad mejorados en relación a los más antiguos, especificidad alta contra un orden particular de artrópodos y que sean menos nocivos contra los enemigos naturales (Devine *et al.*, 2008).

Como respuesta a la búsqueda mundial de alternativas de manejo más sustentables y mediante el uso de la biotecnología, es que se aprueba en algunos países del mundo y para la Argentina en año 2012, la comercialización de la primera soja transgénica resistente a insectos y tolerante a herbicidas (Trigo, 2016).

La soja resistente a lepidópteros en Argentina se obtiene a partir de la inserción de genes derivados de bacterias *Bacillus thuringensis* (*Bt*) (Berliner) que codifican para

cristales de proteínas que son tóxicas para estos insectos. Estas proteínas tóxicas o δ -endotoxinas son el resultado del ensamblaje de varias unidades polipeptídicas de diferentes pesos moleculares, que oscilan entre 27 y 140 kDa, denominadas Cry (del inglés crystal) o Cyt (del inglés cytotoxic). El mecanismo de acción de la proteína Cry implica la formación de poros líticos en la membrana apical del intestino medio del insecto susceptible, mediado por el reconocimiento de un receptor proteico (López-Pazos y Cerón, 2010). El conjunto de reacciones que se llevan a cabo para que una toxina Cry ejerza su efecto puede ser descrito a través del modelo de Bravo y colaboradores (2004), el cual propone que posterior a la ingestión del cristal de *Bt*, estos últimos se solubilizan bajo la fisiología alcalina del intestino medio de la larva susceptible, liberándose la protoxina que a su vez es clivada por proteasas (tripsinas o quimiotripsinas) dejando un fragmento activo de aproximadamente 60-70 kDa. La toxina activa es reconocida por un receptor tipo caderina (CADR) en la microvellosidad apical intestinal. CADRs son una clase de proteínas transmembrana con un dominio citoplasmático y un ectodominio extracelular que consiste de varias repeticiones (~12), donde las repeticiones 7, 11 y 12 interactuarían con el dominio II de la proteína Cry. Luego la hélice α -1 es clivada por proteasas asociadas a vesículas de membrana de la microvellosidad apical (VMMA) con lo cual se forman oligómeros que interactúan con otros receptores de la membrana apical, tales como:

- Aminopeptidasa N (APN): es una exopeptidasa anclada a glicosilfosfatidil-inositol (GPI). Esta exopeptidasa está implicada en el reconocimiento del dominio III de las proteínas Cry
- Fosfatasa alcalina (ALP): son proteínas ancladas a GPI de ~65 kDa. Similar a APN, dependiente del reconocimiento de un oligosacárido de terminación Gal-Nac unido a esta proteína.

La unión con estos receptores (APN y ALP) promueve un cambio conformacional de la toxina que facilita la escisión proteolítica de la hélice α -1, mediante una proteasa unida a la membrana. Esta escisión da como resultado la formación de una estructura tetrámera de pre-poro que es apto para la inserción. Los péptidos APN y ALP dirigen al complejo pre-poro a zonas específicas de la membrana donde se inserta. Esto lleva a generar poros líticos en la membrana celular que conduce a cambios muy rápidos en su potencial, en el

equilibrio iónico y en los flujos de agua, que conducen al hinchamiento celular, lisis y la posterior muerte del hospedero (Fig. 1).

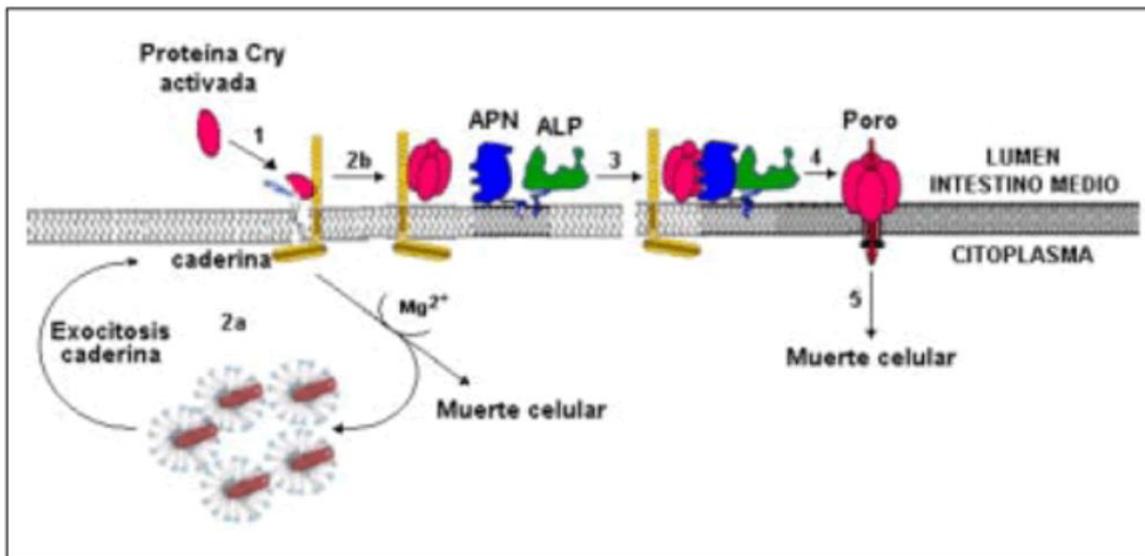


Figura 1. Mecanismo de acción de proteínas Cry en insectos lepidópteros (Extraído de Sauka y Benintende, 2008). 1) Unión de la toxina a caderina y clivaje desde su extremo C-terminal para generar la forma monomérica activa. 2a) Inicio de la cascada de señalización dependiente de Mg^{2+} , estimulación de exocitosis de caderina desde vesículas intracelulares hacia la membrana apical y consiguiente muerte celular. 2b) Formación de la estructura oligomérica pre-poro. 3) Unión del oligómero a la aminopeptidasa N (APN) y/o fosfatasa alcalina (ALP) y migración a zonas específicas de la membrana. 4) Formación del poro. 5) Desequilibrio osmótico y consiguiente muerte celular.

La inserción de los genes *Bt* protege a la planta de soja del ataque de larvas pertenecientes al orden Lepidoptera como: *Crociosema (=Epinotia) aporema* (Walsingham) (barrenador del brote) (Tortricidae), *A. gemmatalis* (Hübner) (oruga de las leguminosas)(Noctuidae), *R. nu* (Guenée) (oruga medidora)(Noctuidae), *Chrysodeixis (=Pseudoplusia) includens* (Walker) (falsa medidora)(Noctuidae), *H. gelotopoeon* (Dyar) (isoca bolillera) (Noctuidae) durante todo el ciclo del cultivo (Perotti *et al.*, 2014).

A nivel productivo, en la campaña 2015/2016, de las aproximadamente 24,5 millones de hectáreas cultivadas con transgénicos, alrededor de 20,3 millones correspondieron a soja, en su mayoría tolerante a herbicida, pero con un porcentaje creciente de las nuevas variedades que además incorporan o “apilan” genes que le

otorgan resistencia a insectos (Fig. 2) (Trigo, 2016). La adopción de sojas resistente a insectos (*Bt*) por parte de los productores argentinos viene creciendo año a año, y así lo demuestran los datos publicados por la Bolsa de Cereales, los cuales indicaron para la campaña 2014/15 un nivel de adopción nacional del 7%, mientras que para la campaña 2016/17 este valor se elevó a 18%, con perspectivas a crecer aún más en la campaña 2017/2018 (BC, 2017).

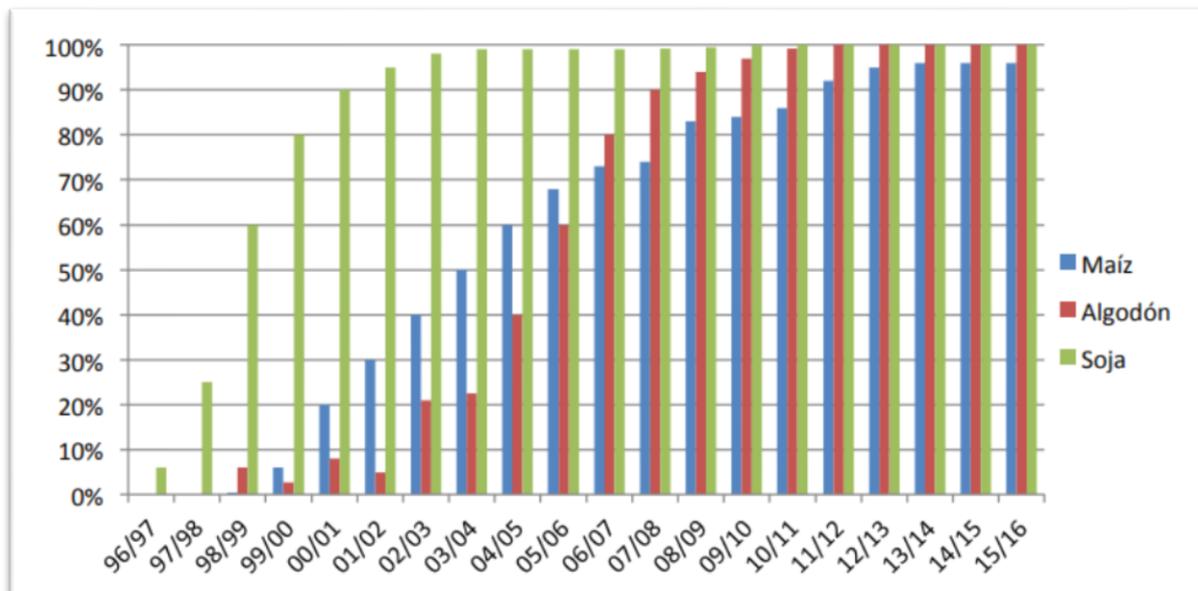


Figura 2. Evolución de la superficie sembrada en Argentina con soja, maíz y algodón genéticamente modificados, expresada como porcentaje de sus respectivas áreas totales (Trigo, 2016).

Este incremento en los niveles de adopción de cultivos genéticamente modificados (GM) y más específicamente cultivos de soja que expresen las toxinas Cry (*Bt*) plantea en la sociedad la polémica en torno a su uso, los posibles efectos negativos sobre la bioseguridad (que hacen referencia fundamentalmente a cambios en el medio ambiente que alteren la biodiversidad), la contaminación de los centros de origen de las especies modificadas genéticamente, el cambio de las frecuencias génicas, la aparición de insectos resistentes generados por una alta presión de selección de estos cultivos y las respuestas alérgicas que las proteínas tóxicas para los insectos podrían desarrollar sobre el hombre, entre otros (Permingeat y Margarit, 2005; Mesnage *et al.*, 2013; Ibarra y Del Rincón Castro, 2015).

Existen reportes de riesgos sobre insectos benéficos (polinizadores, parasitoides y predadores de insectos plaga) e insectos no blanco (Hilbeck *et al.*, 1998; Losey *et al.*, 1999; Cavalcante *et al.*, 2009). Dentro de los riesgos se citan efectos negativos sobre los parasitoides al modificarse la calidad de su huésped, exposición directa a la proteína al contactarse con tejidos de su hospedante contaminado, o la no culminación de su ciclo debido a la muerte del organismo blanco del parasitismo. Esta modificación introducida en el sistema podría reducir la población de controladores biológicos así como también inducir cambios en la conducta de estos agentes, la aparición como plaga primaria de aquellos insectos que eran bien controlados por esos enemigos naturales y el surgimiento de otras plagas al disminuir o desaparecer los tratamientos insecticidas para el control de lepidópteros que también controlaban poblaciones de otros insectos (Schuler *et al.*, 1999; Igarzábal y Gálvez, 2014; Ibarra y Del Rincón Castro, 2015).

Es necesaria entonces una estrategia alternativa basada en el uso de los principios ecológicos para aprovechar al máximo los beneficios de la biodiversidad en la agricultura (Nicholls, 2010). Se plantea la posibilidad de integrar otras prácticas que permitan manejar las plagas eficientemente. Por ejemplo, identificando y aprovechando la capacidad que tienen las plantas de tolerar o resistir daños por plagas y la acción de factores naturales de mortalidad, como son parasitoides, depredadores y patógenos (Alatorre *et al.*, 2000).

Kogan y Shenk (2002) definen al Manejo Integrado de Plagas (MIP) como: “un sistema de apoyo a la toma de decisiones para la selección y el uso de tácticas, individuales o múltiples, para el control de plagas, las cuales se coordinan armoniosamente en una estrategia de manejo basada en un análisis de costos con relación a los beneficios, considerando los intereses e impactos sobre los productores, la sociedad y el ambiente”. Este sistema tiene dos principios que lo guían, el conocimiento del sistema agroecológico o agroecosistema y el uso de los Niveles de Daño Económico (NDE). Para entender el funcionamiento del ecosistema, sus diversas interrelaciones y el efecto de las distintas intervenciones que el hombre realiza sobre él, es de vital importancia la realización de un monitoreo detallado de cada uno de sus componentes así como las especies presentes. Este conocimiento otorga información que permite optimizar el momento y las condiciones propicias para la toma de decisiones. El NDE puede

definirse como la densidad poblacional de la especie plaga, en donde el valor del rendimiento salvado cubre exactamente los gastos de la implementación del método de control (Badii *et al.*, 2007). Conocer nuestro agroecosistema permitirá también identificar factores de mortalidad como son, entre otros, los parasitoides oófagos. Estos ayudan a disminuir las poblaciones de especies perjudiciales, brindando un servicio que merece ser contemplado (Nicholls, 2010; Van Lenteren *et al.*, 2018).

El control biológico brinda un complemento y en algunos casos una alternativa ambiental y económicamente sólida al control químico y al uso de sojas genéticamente modificadas (*Bt*). El control biológico natural es un servicio ecosistémico, por el cual un grupo de organismos (principalmente insectos) reducen las poblaciones de los organismos plaga. Esto ocurre en todos los ecosistemas del mundo sin ninguna intervención humana, y, en términos económicos, es la mayor contribución del control biológico a la agricultura (Van Lenteren *et al.*, 2018).

De Groot *et al.*, (2002) definieron a los servicios ecosistémicos como la capacidad que tienen los ecosistemas para proporcionar bienes y servicios que satisfagan las necesidades humanas directa o indirectamente, por lo que el control biológico representa sin dudas un herramienta que el hombre debe utilizar y conservar en su afán de satisfacer sus demandas.

Eilengber *et al.*, (2001) clasificaron cuatro tipos de control biológico:

- Control biológico clásico: Introducción intencional de un agente de control biológico exótico, generalmente coevolucionado, para el establecimiento permanente y el control de plagas a largo plazo.
- Control biológico inoculativo: Liberación intencional de un organismo vivo como agente de control biológico con la expectativa de que se multiplicará y controlará la plaga durante un período prolongado, pero no de forma permanente.
- Control biológico inundativo: Uso de organismos vivos para controlar las plagas cuando el control se logra exclusivamente por los propios organismos liberados.
- Control biológico por conservación: Modificación del medio ambiente o prácticas existentes para proteger y mejorar la acción de enemigos naturales u otros organismos específicos y reducir así el efecto de las plagas.

La implementación de las estrategias de control biológico clásico, inoculativo e inundativo, si bien es efectiva; es discutida también porque exige liberaciones continuas. Existe una pérdida de eficacia en el tiempo asociada a la falta de diversidad de plantas y recursos florales que proporcionen alimentos para los adultos del controlador, como también a la inexistencia de hospederos alternativos dentro de los monocultivos, y a la menor adaptación ecológica de los enemigos naturales exóticos con respecto a los autóctonos en la supresión de plagas nativas (Parra, 2014; Michaud, 2018).

El control biológico por conservación consiste en la modificación del ambiente para proveer hábitat y recursos que favorezcan el establecimiento temprano y el desarrollo de enemigos naturales (Diaz, 2015). El objetivo es crear un entorno que establezca las relaciones entre cultivo, plaga y enemigos naturales, y que sea capaz de evitar variaciones en las poblaciones de los organismos plagas que originen pérdidas en la producción. La estabilidad es consecuencia de la biodiversidad contenida en el agroecosistema, la cual puede verse incrementada mediante diversas prácticas de manejo (Altieri y Letourneau 1982). Estas prácticas se han perfeccionado y en la actualidad pueden agruparse fundamentalmente en dos: el manejo de hábitat y la ecología química del agroecosistema (Paredes *et al.*, 2013).

El manejo del hábitat se basa en la modificación del medio para mejorar la disponibilidad de los recursos requeridos por los enemigos naturales para que la acción contra las plagas sea óptima. Prácticas como el laboreo reducido, el uso de cultivos de cobertura, cultivos asociados o mixtos, intercalados, en franjas y las rotaciones, han demostrado su capacidad para favorecer la presencia de distintos entomófagos. Muchas zonas se caracterizan por una baja variedad de cultivos que se siembran y cosechan en pocos meses, a veces con frecuente laboreo y un uso intensivo de la tierra que reduce la superficie con vegetación silvestre (parches). Como consecuencia, los entomófagos deben recolonizar el lote de nuevo en cada cultivo con lo que materialmente no hay tiempo para que se establezca una relación duradera con la plaga. Por ello es necesario restablecer en el paisaje aquella "estabilidad" que no se encuentra dentro de los lotes (Altieri y Letourneau 1982; Alomar y Albajes, 2005).

Thies y Tschamtko (1999) demostraron, en cultivos de colza, una correlación entre la disminución del daño realizado por plagas, así como el aumento de porcentaje de parasitoidismo, con el incremento de la diversidad del paisaje circundante.

Otra disciplina que optimiza el control biológico por conservación es la ecología química, que estudia las sustancias que permiten la interacción de las plantas con los insectos, para poder modificar su comportamiento en nuestro beneficio. Estudia además compuestos químicos con acción insecticida, que sean específicos sobre un organismo y que no tengan efecto sobre el resto de la entomofauna (Badii *et al.*, 2007; Paredes *et al.*, 2013).

Para que el control biológico por conservación se desarrolle con éxito es necesario conocer las comunidades de plagas presentes en cada cultivo y de sus enemigos naturales, la bioecología tanto de los organismos perjudiciales como de los enemigos naturales, así como sus fluctuaciones estacionales y su relación con las condiciones ambientales que promuevan o reduzcan sus poblaciones (Diaz, 2015).

La revisión bibliográfica revela que existe un importante complejo de enemigos naturales que contribuyen al control de lepidópteros; entre los que se destacan parasitoides oófagos como los mencionados por Molinari y Monetti (1997); Knutson (1998); Foerster y Avanci (1999). Los parasitoides son definidos como aquellos insectos que en su estado inmaduro se alimentan y desarrollan dentro o sobre el cuerpo de un solo insecto hospedante al cual pueden esterilizar, reducir su éxito reproductivo y eventualmente matar, o bien, desarrollarse dentro de los huevos de éste (Carballo, 2002). Cuando las larvas se desarrollan dentro del hospedero, se llaman endoparasitoides y los que se desarrollan externamente son ectoparasitoides. Si los parasitoides permiten que los hospederos crezcan después de ser atacados son llamados koinobiontes. En contraste, los idiobiontes no permiten el desarrollo del hospedero después del ataque. Los términos que describen el número de individuos o de especies parasíticas que se desarrollan en un solo hospedero, incluyen al parasitoide solitario, el cual denota que sólo un parasitoide por hospedero puede desarrollarse hasta la madurez, y el parasitoide gregario, donde varios pueden hacerlo. El superparasitoidismo ocurre cuando varios huevos de una especie de parasitoide pueden sobrevivir en un mismo huésped mientras que la presencia de dos o más individuos de diferentes especies es llamada

multiparasitismo. El hiperparasitismo ocurre cuando un parasitoide ataca a otro, el cual generalmente se considera desfavorable para el control biológico (Van Drische *et al.*, 2007).

Estudios realizados en Argentina por Botto *et al.*, (1992), Frias *et al.*, (1993) y Valverde y Virla (2007) revelan la eficiencia de diversos parasitoides en el control de lepidópteros plaga en soja. Entre los principales parasitoides oófagos citados en Argentina encontramos a los géneros *Trichogramma* (Westwood) (Hymenoptera: Tricogrammatidae), *Encarsia* (Förster) (Hymenoptera: Aphelinidae) y *Telenomus* (Haliday) (Hymenoptera: Scelionidae) (Ovruski y Frias, 1995; Valverde, 2007; Valverde y Virla, 2007; Margaría *et al.*, 2009).

Las hembras adultas de los parasitoides citados son sumamente eficaces en la detección y parasitoidismo de huevos de sus hospederos, ya que usan pistas químicas y visuales para localizarlos. Las pistas químicas, llamadas kairomonas, se encuentran en las escamas de la polilla que la misma dejó cerca del huevo durante la oviposición. Algunos de estos mismos químicos son también feromonas sexuales. La forma y el color del huevo también son pistas visuales para los parasitoides. Una vez que una hembra encuentra un huevo, atraviesa el corion e inserta de dos a tres huevos en el huevo de su hospedante (Fig. 3. 1). La presión interna del huevo aumenta lo que fuerza una pequeña gota de vitelo fuera del orificio de oviposición. Las hembras se alimentan de este vitelo, lo que aumenta su longevidad (Knutson, 1998).

El vitelo y el embrión del huevo parasitado se digieren antes de que el huevo del parasitoide eclosione. Se cree que un veneno inyectado por la hembra en el momento de la oviposición causa esta predigestión de los contenidos del huevo. Las larvas emergen en aproximadamente 24 horas y se desarrollan muy rápidamente (Fig. 3. 2). Las larvas luego se transforman en la etapa de pupa inactiva. Después de aproximadamente 4-5 días, las avispas adultas emergen de sus pupas y escapan del huevo masticando un orificio circular en el corion. La capa negra dentro del corion y el orificio de salida son evidencia de parasitoidismo (Fig. 3. 3, 4). El ciclo de vida requiere alrededor de 9 días, pero varía desde 8 días cuando las temperaturas son altas (32°C) hasta 17 días a 15°C (Bueno, 2009). Los huevos de lepidópteros más viejos, especialmente aquellos en los que

la cápsula de la cabeza de la larva es visible, no suelen parasitarse y, si lo están, la supervivencia del parasitoide es mucho menor (Knutson, 1998).



Figura 3. Ciclo de vida de *Trichogramma* spp. (Extraído de Knutson, 1998). 1) La avispa *Trichogramma* spp. parasita el huevo en cualquier momento anterior a que la cápsula de la cabeza de la larva sea visible. 2) La larva de *Trichogramma* spp. se alimenta internamente del huevo y este toma color tostado. 3) *Trichogramma* spp. muda a pupa y el huevo se torna color negro. 4) Emergencia de adultos.

En estudios llevados a cabo por Valverde y Virla (2007) en Tucumán sobre el cultivo de soja y huevos de tres especies hospedantes (*A. gemmatalis*, *R. nu*, *C. includens*), determinaron un 72,6% de parasitoidismo total, siendo *A. gemmatalis* la más afectada (80,3%), seguida por *R. nu* (69,4%). Las especies parasitoides más frecuentes resultaron *Trichogramma pretiosum* (Riley) seguida de *Encarsia porteri* (Mercet). Estos resultados ponen en evidencia la efectividad de estos organismos y con ello la necesidad de determinar las especies presentes, tanto como el parasitoidismo alcanzado en cada ambiente sobre los principales lepidópteros plagas en cultivos de soja, así como también el posible efecto sobre los mismos de los cultivos genéticamente modificados.

Una técnica complementaria para el relevamiento y entendimiento de los factores que afectan a estos organismos benéficos es la de las plantas centinela, las cuales funcionan como trampas atrayentes para los distintos parasitoides oófagos por medio de la exposición de huevos de las especies perjudiciales de interés al ambiente (Luft *et al.*, 2015; Meneses, 2015). Con esta técnica se busca exponer a los huevos de las especies blanco a las poblaciones de parasitoides que se encuentran naturalmente en los cultivos y de esta manera poder identificar los parasitoides existentes y determinar su dinámica poblacional.

Debido a la importancia que tiene conocer las interacciones que tienen algunos insectos benéficos, como los parasitoides, en la supresión de los niveles poblacionales de organismos plaga y efecto que pueden tener sobre ellos algunas de las distintas intervenciones que el hombre realiza sobre el medio, es que se decidió realizar el presente trabajo.

HIPÓTESIS

El cultivo de soja realizado con variedades genéticamente modificadas (*Bt*-RR) afecta la ocurrencia del parasitoidismo de huevos de lepidópteros y la diversidad de especies de parasitoides.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el impacto de la soja genéticamente modificada (*Bt*-RR) sobre el control biológico espontáneo ejercido por los parasitoides oófagos de lepidópteros.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Releva el parasitoidismo de huevos de lepidópteros plagas en soja.
- Identificar los parasitoides presentes.
- Comparar el valor de parasitoidismo entre variedades RR e IPRO RR.
- Adaptar la estrategia del uso de plantas centinelas para monitorear parasitoides de huevos de lepidópteros.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la localidad de Pergamino, en la Unidad Integrada INTA-UNNOBA (33°56'20,54" S; 60°33'31,55" O). Las variedades de soja utilizadas fueron ACA 4990 RR y ACA 4949 IPRO RR. Se sembró 1 macroparcela de 3000 m² de cada variedad, con 20 m de frente, 150 m de fondo y 52 cm. de distancia entre surcos, con antecesor soja. Previo a la siembra del ensayo se efectuaron tareas de labranza (rastra de disco y rolo). Entre las macroparcelas y el perímetro del ensayo, se dejaron caminos de 5 m de ancho (Fig. 4).



Figura 4. Plano del ensayo. Imagen extraída de Google Earth (Google, 2018).

La siembra se llevó a cabo el 5 de diciembre 2017, con una densidad de 17 plantas por metro lineal de surco y sembradora experimental de 4 surcos.

El control de malezas se efectuó mediante dos pasadas de disco previas a la siembra y la aplicación de herbicidas en post-emergencia del cultivo. Se realizó una aplicación el día 11/2/2018 con 3 l/ha glifosato (48%).

El día 22/2/2018, en un foco con la presencia de alta incidencia de arañuela roja (*Tetranychus urticae*) se aplicó clorpirifós 48% (LORSBAN 48E), localmente y con mochila.

Cada 7 días y durante todo el ciclo del cultivo se monitorearon folíolos individuales de soja colectando huevos de las diferentes especies. Para ello, en cada macroparcela se tomaron 12 unidades muestrales de un metro lineal, y de cada una se colectaron 40 folíolos siguiendo la metodología de Valverde y Virla (2007), durante los primeros estadios del cultivo y con el fin de no generar un daño grave en plantas pequeñas, se monitorearon con lupa de mano plantas enteras. El material fue trasladado en bolsas de papel al laboratorio para su posterior revisión con ayuda de la lupa binocular 20X, a fin de visualizar huevos de lepidópteros en los folíolos.

La identificación de los huevos de lepidópteros se realizó mediante la consulta de los trabajos de Peterson (1964), Olivares *et al.* (2005), Navarro *et al.* (2009) y la consulta con profesionales de la Universidad Nacional de La Plata y de INTA. Para el reconocimiento de los parasitoides se visualizaron algunos caracteres como; número de tarsos, forma del cuerpo, constricción entre mesosoma y metasoma, textura de la cutícula, coloración, flagelos de las antenas, forma y venación del ala, entre otras, y se siguieron las claves de Pinto (1998), Fernández y Sharkey (2006), Querino y Zucchi (2011) y Margaría (inéd., 2014).

En el relevamiento de los parasitoides, se implementó también la técnica de las plantas centinelas, estas consisten en plantas de soja de las variedades evaluadas (ACA 4990 RR y ACA 4949 IPRO RR) que sirven de sustrato para la oviposición de los adultos de lepidópteros, que fueron mantenidas en laboratorio, en condiciones controladas (temperatura: 25 ± 2 °C; humedad: 70 ± 10 %; fotoperíodo natural). Estas plantas actúan como “trampas activas”, con huevos de la especie *Anticarsia gemmatalis* y otras plantas con huevos de *Rachiplusia nu*. Las mismas se comportan como atrayentes de parasitoides oófagos y son una herramienta efectiva para realizar un relevamiento de este grupo de enemigos naturales (Luft *et al.*, 2015; Meneses, 2015).

Para la obtención de plantas centinelas se sembraron macetas de 1 litro de volumen en un sustrato compuesto por tierra y turba bajo condiciones de temperatura y fotoperíodo natural (Fig. 5).



Figura 5. Siembra de macetas para la obtención de plantas centinela.

Los adultos de lepidópteros se obtuvieron de trampas de luz del sistema de alerta y monitoreo de INTA – Estación Experimental Agropecuaria Pergamino (Fig. 6). Los mismos fueron mantenidos en jaulas de 40x60x40 cm recubiertas de telas antiáfidos, con solución azucarada y agua, en la que se colocaron las plántulas que sirvieron de sitio de oviposición de los adultos (Fig. 7). Las jaulas fueron mantenidas bajo condiciones estables de temperatura y fotoperíodo (temperatura: 25 ± 2 °C; humedad: 70 ± 10 %; fotoperíodo natural).



Figura 6. Recolección de trampas de luz de adultos de *A. gemmatalis* y *R. nu.*



Figura 7. Jaulas para mantención de adultos de lepidópteros y obtención de plantas centinela.

Las plantas centinelas se instalaron en el campo (Fig. 8) a medida que las mismas fueron logradas. Se colocaron repartidas al azar en cada macroparcela, localizadas en posiciones internas para evitar el efecto de la bordura, estas permanecieron allí por 2 días. Después de ese periodo las plantas colectadas se remitieron al laboratorio.



Figura 8. Plantas centinelas instalada a campo y con oviposición visible.

Para complementar el relevamiento de especies parasitoides de huevos de lepidópteros, en cada tratamiento se colectaron al azar hojas de malezas espontáneas que escaparon al control de malezas realizado en el ensayo.

La evaluación del parasitoidismo se llevó a cabo a través del recuento de huevos de lepidópteros obtenidos por la técnica de plantas centinelas, colectados de las malezas presentes y de aquellos colectados a partir de la observación directa de los folíolos de soja recogidos de las plantas de cada macroparcela. Los huevos obtenidos fueron colocados individualmente en placas de Petri de 10 cm de diámetro y 1,5 cm de altura, con el fondo cubierto con papel humedecido, mantenidos en condiciones de laboratorio (temperatura: 25 ± 2 °C; humedad: 70 ± 10 %; fotoperíodo natural) y observados periódicamente para verificar la emergencia de larvas de lepidóptero o de adultos de parasitoides (Valverde, 2007; Valverde y Virla, 2007).

Con el material colectado e identificado se realizaron distintos tipos de análisis como: curva de acumulación de especies de huevos de lepidópteros, curva de densidad media de huevos, porcentaje de parasitoidismo. El porcentaje de parasitoidismo se calculó como el número de huevos parasitados/ número de huevos expuestos x 100.

Para evaluar el posible efecto diferencial en el parasitoidismo comparando las variedades (RR e IPRO RR), se calcularon los porcentajes de huevos parasitados en cada cultivar y se lo comparo con un test de T ($\alpha > 0,05$), mediante el análisis de Modelos Generalizados Lineales Mixtos que permite integrar en el análisis las distintas fechas de

monitoreo realizadas tomándolas como repeticiones en el tiempo. Para ello, se utilizó el paquete estadístico Infostat (Infostat, 2018).

RESULTADOS.

La figura 9 muestra la curva de acumulación de huevos de especies de lepidópteros que surge de comparar el número de especies encontradas en los distintos cultivares.

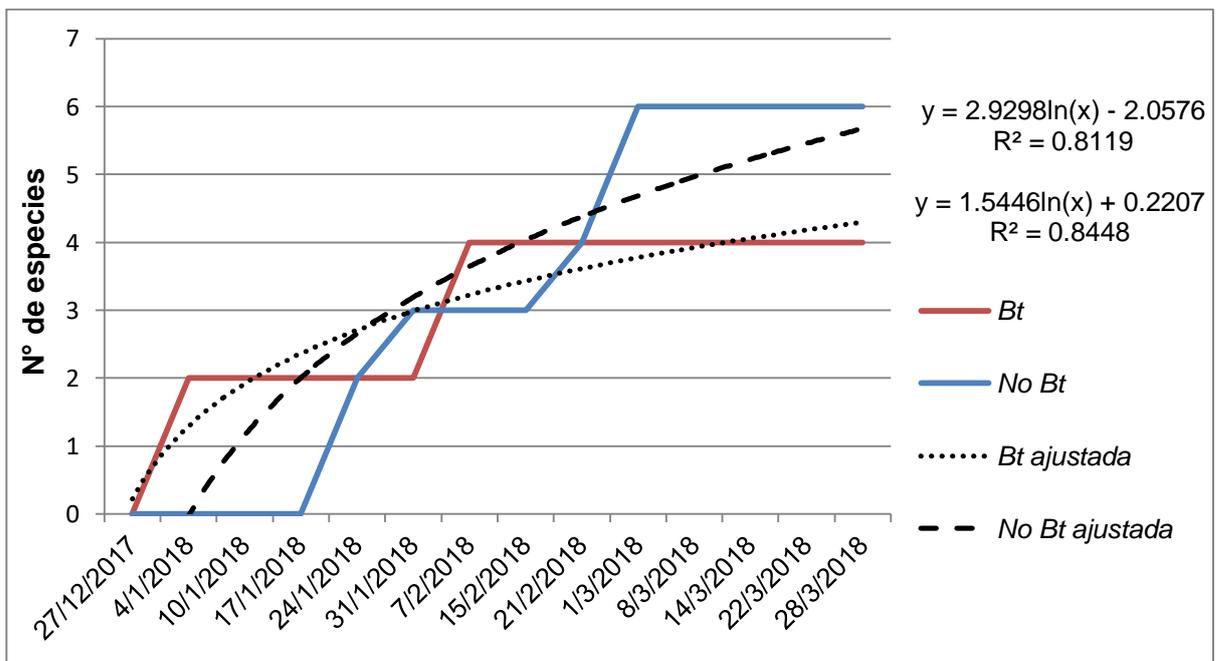


Figura 9. Curva de acumulación de huevos de especies de lepidópteros en cultivar *Bt* y *No Bt*.

En la figura 10 se muestra en número de huevos obtenidos mediante la colecta de folíolos de cada cultivar, tanto como el obtenido de las malezas espontáneas surgidas en el ensayo, representadas fundamentalmente por malva (*Anoda cristata* (L) Schl.) tanto en la parcela que contenía soja *Bt* como *No Bt*, se muestra también el número total de huevos por especie (Tabla 1). La única especie encontrada en malezas (malva) fue *Pyrgus* sp.

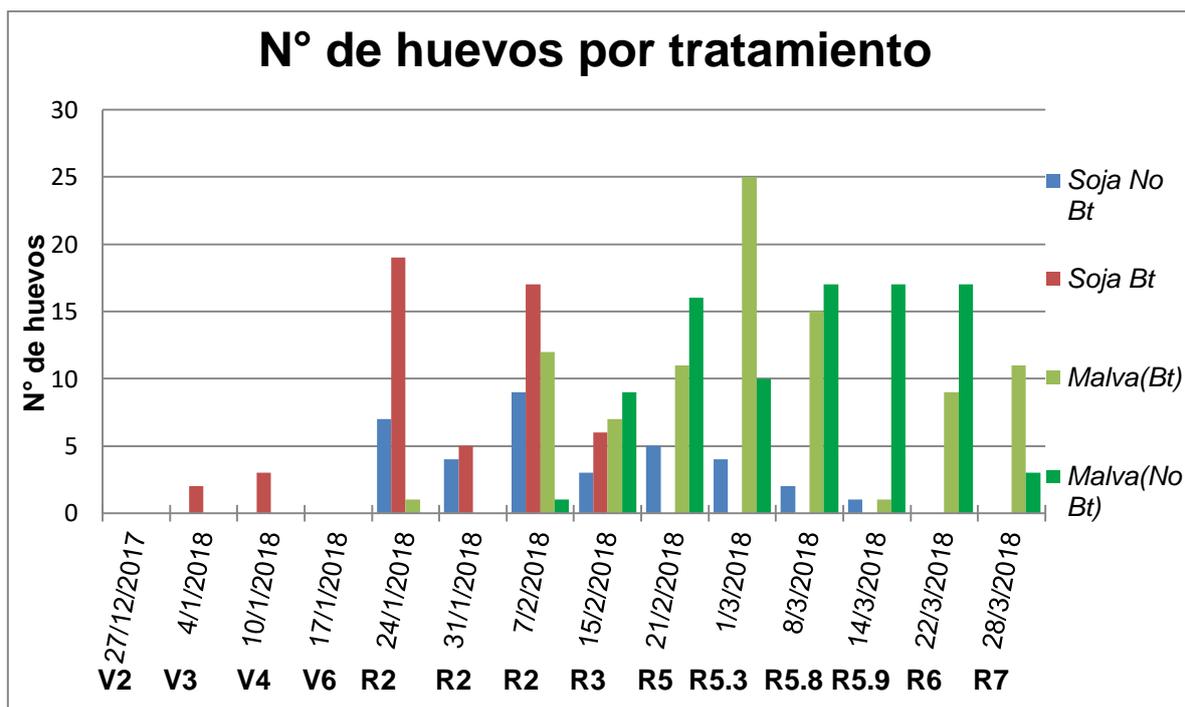


Figura 10. Número de huevos obtenidos en la colecta de folíolos.

Tabla 1. Distribución de huevos colectados por especie.

Especie	<i>R. nu</i>	<i>A. gemmatalis</i>	<i>Pyrgus sp.</i>	<i>C. includens</i>	<i>Thecla sp.</i>	<i>H. gelotopoeon</i>
N° total de huevos	69	4	181	3	5	1

En la Tabla 2 se observa la significancia estadística en el número de huevos para cada uno de los tratamientos.

Tabla 2. Número de huevos - Medias ajustadas y errores estándares para cada Tratamiento. LSD Fisher ($\alpha=0,05$)

Tratamiento	PredLin	E.E	Media	E.E		
No Bt	0.28	0.14	0.28	0.14	B	
Bt	0.39	0.14	0.39	0.14	B	A
Malva (No Bt)	0.75	0.14	0.75	0.14		A
Malva (Bt)	0.76	0.14	0.76	0.14		A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En la tabla 3 se aprecia la densidad total de huevos para las dos principales especies plagas en soja (*R. nu* y *A. gemmatalis*) durante los estadios vegetativos y reproductivos en los tratamientos con soja *Bt* y *No Bt*.

Tabla 3. Densidad total de huevos de las especies *R. nu* y *A. gemmatalis*, durante los estados vegetativos y reproductivos, para cada cultivar.

Fechas de monitoreo/Estadio fenológico		<i>Rachiplusia nu</i>		<i>Anticarsia gemmatalis</i>	
		N° de huevos en <i>Bt</i>	N° de huevos en <i>No Bt</i>	N° de huevos en <i>Bt</i>	N° de huevos en <i>No Bt</i>
27/12/2017	V2	0	0	0	0
4/1/2018	V3	1	0	0	0
10/1/2018	V4	0	0	0	0
17/1/2018	V6	0	0	0	0
24/1/2018	R2	19	6	0	0
31/1/2018	R2	5	3	0	0
7/2/2018	R2	14	9	2	0
15/2/2018	R3	6	3	0	0
21/2/2018	R5	0	3	0	0
1/3/2018	R5.3	0	0	0	1
8/3/2018	R5.8	0	0	0	1
14/3/2018	R5.9	0	0	0	0
22/3/2018	R6	0	0	0	0
28/3/2018	R7	0	0	0	0

La figura 11 muestra gráficamente cómo se distribuyeron los huevos de *R. nu* y *A. gemmatalis* a lo largo del ciclo del cultivo en cada tratamiento (*Bt* y *No Bt*).

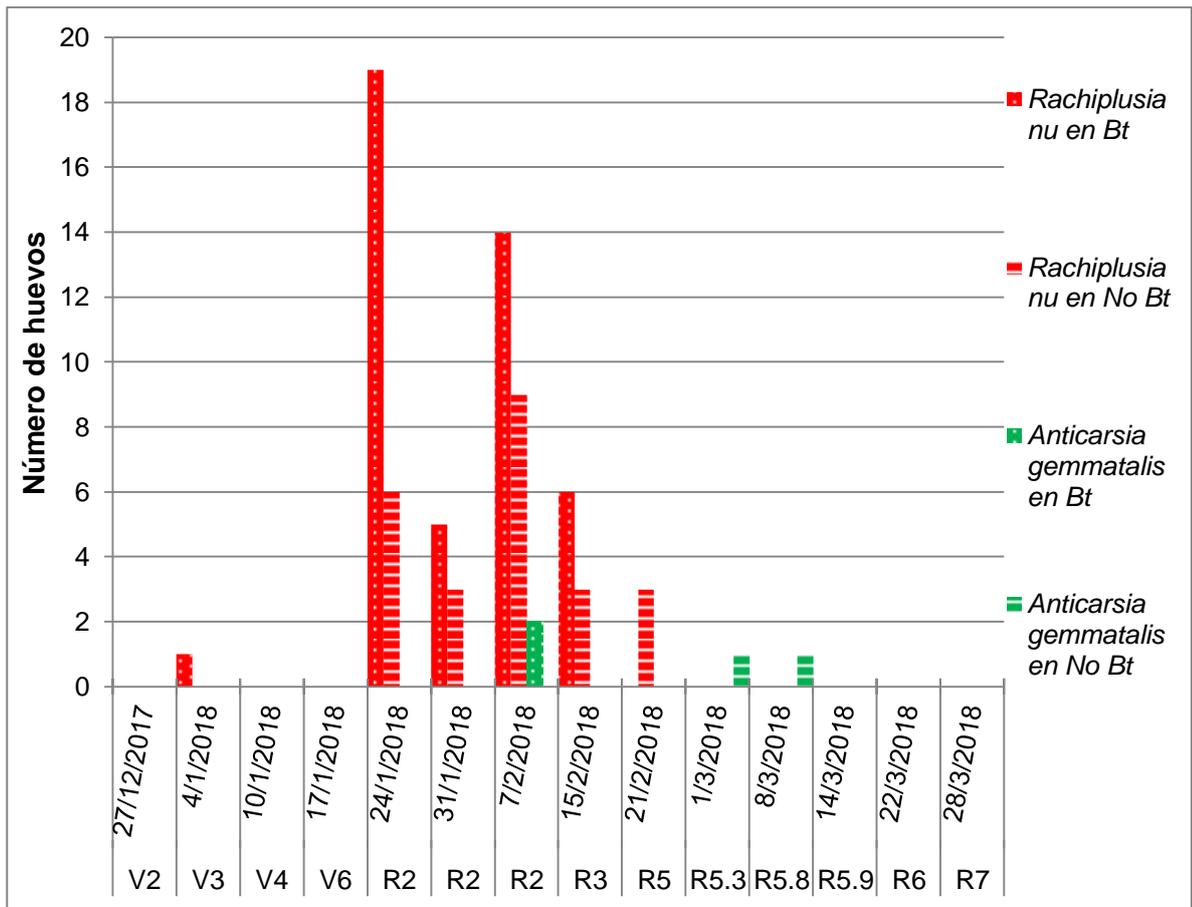


Figura 11. Distribución de huevos de las especies *R. nu* y *A. gemmatalis*, durante los estados vegetativos y reproductivos, en los cultivares *Bt* y *No Bt*.

Se determinó semanalmente el parasitoidismo total en cada uno de los cultivares RR-*Bt*(IPRO) y RR, así como también en malva (Fig. 12).

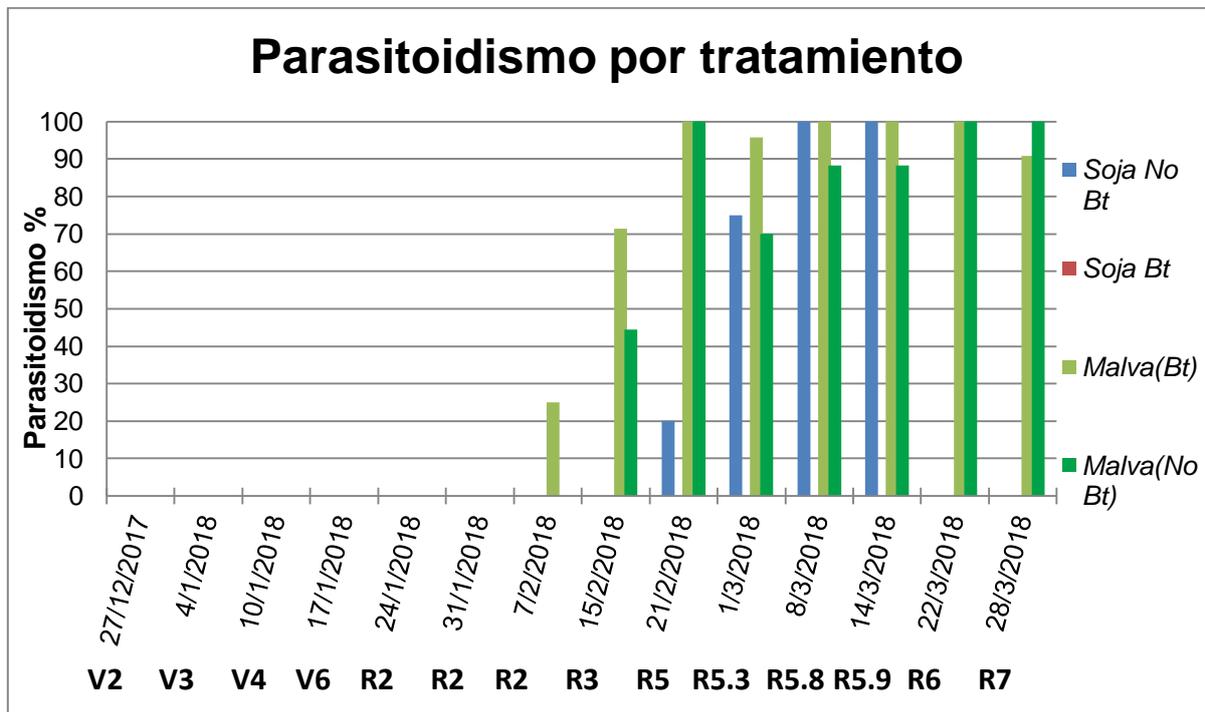


Figura 12. Parasitoidismo obtenido para cada fecha de monitoreo en cultivar *Bt* y *No Bt* como en malezas (representado fundamentalmente por malva).

En la Figura 13 se observa el parasitoidismo total obtenido en cada cultivar y en malezas (malva).

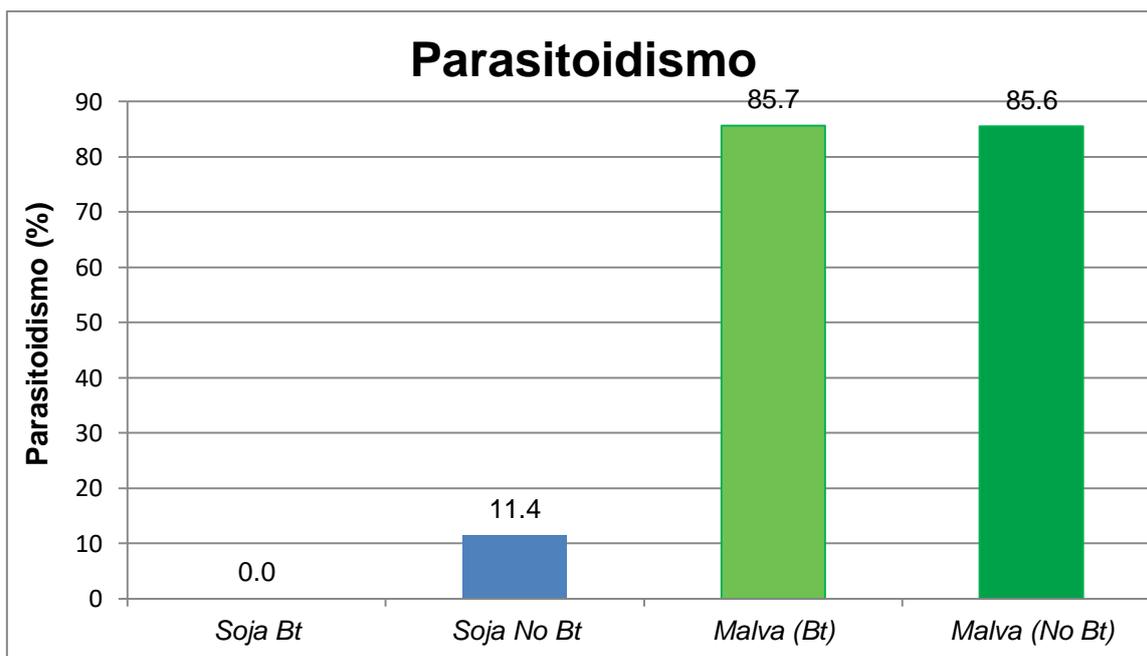


Figura 13. Parasitoidismo total por cultivar (*Bt* y *No Bt*) y en malezas (malva).

En la Tabla 4 se muestra la significancia estadística en el número de huevos parasitados para cada uno de los tratamientos.

Tabla 4. Número de huevos parasitoidizados - Medias ajustadas y errores estándares para cada Tratamiento. *LSD Fisher (Alfa=0,05)*.

Tratamiento	PredLin	E.E	Media	E.E		
<i>Bt</i>	0.01	0.12	0.01	0.12	B	
<i>No Bt</i>	0.06	0.12	0.06	0.12	B	
Malva (<i>No Bt</i>)	0.63	0.12	0.63	0.12		A
Malva (<i>Bt</i>)	0.64	0.12	0.64	0.12		A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

La figura 14 y 15 representa el número de huevos y el parasitoidismo oóforo obtenido en cada fecha de muestreo para las dos principales especies plagas en el cultivo de soja. Se añade también el parasitoidismo oóforo logrado en la especie *Pyrgus sp.* (Hübner), especie más frecuentemente encontrada en el muestreo de malezas (Figura 16).

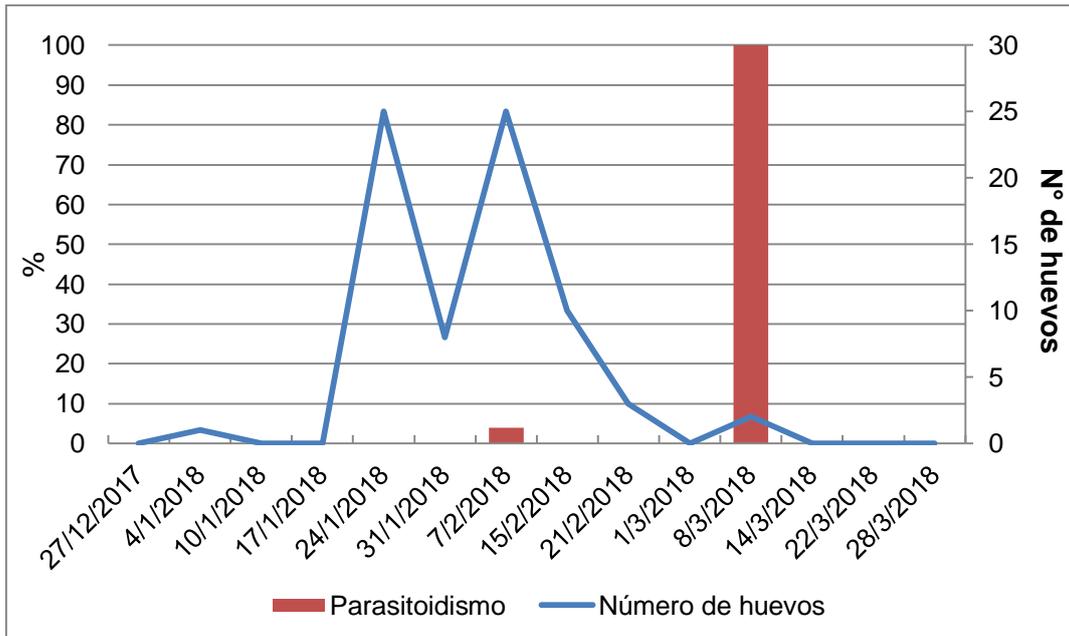


Figura 14. Parasitoidismo y número de huevos obtenidos en cada fecha de monitoreo para la especie *R. nu.*

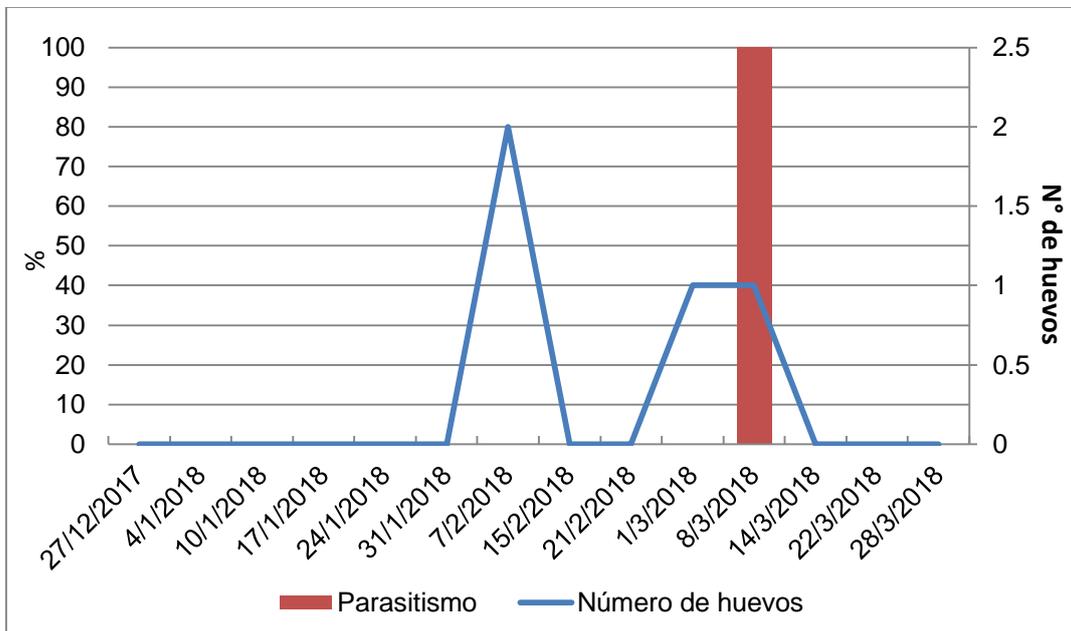


Figura 15. Parasitoidismo y número de huevos obtenidos en cada fecha de monitoreo para la especie *A. gemmatalis.*

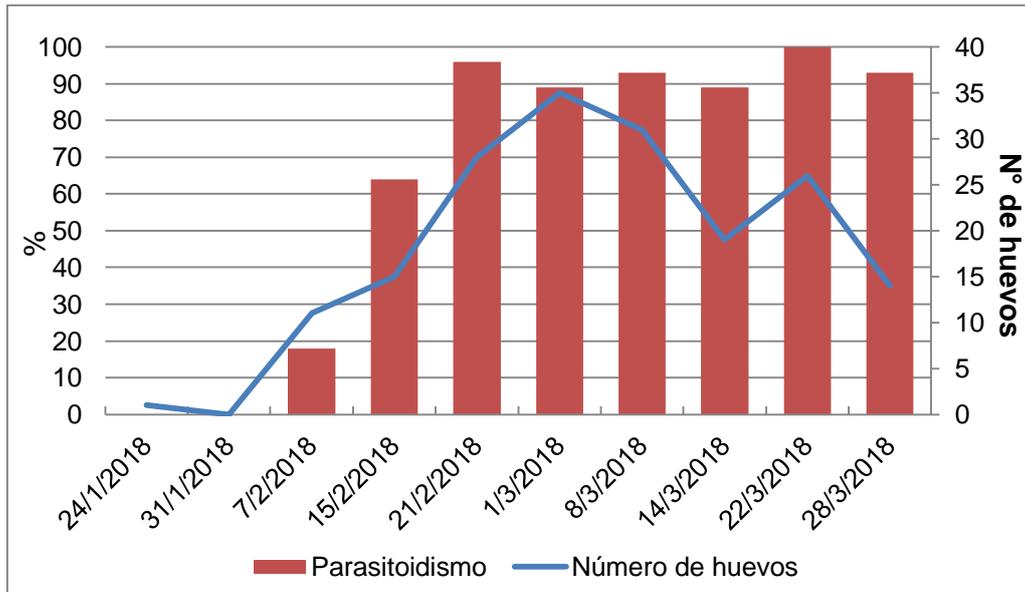


Figura 16. Parasitoidismo y número de huevos obtenidos en cada fecha de monitoreo para la especie *Pyrgus* sp.

Como resultado de la identificación de los parasitoides emergidos se determinó que el 100% de ellos correspondían al género *Trichogramma*.

Utilizando el método de plantas centinela se obtuvieron un total de 120 huevos, 85 de la especie *R. nu* y 35 de la especie *A. gemmatalis* los cuales se distribuyeron a campo al azar entre las parcelas *Bt* y *No Bt* a partir de la fecha 29/1/2018 hasta finalización del ciclo del cultivo. El parasitoidismo obtenido por esta técnica fue del cero por ciento.

DISCUSIÓN.

La curva de acumulación de especies en las parcelas con cultivo de soja *Bt* y No *Bt* (Figura 9), muestra una acumulación mayor y favorable para la soja No *Bt*, aunque la aparición de las primeras especies se dio en la soja *Bt*. Este efecto podría deberse a diferencias en las características morfológicas, a la calidad nutricional de las plantas y a un posible contenido diferencial de metabolitos secundarios entre ambos cultivares, rasgos que pueden afectar la selección de plantas para la oviposición (Awmack y Leather, 2002; Schoonhoven *et al.*, 2005).

Los huevos de lepidópteros colectados en ambos tratamientos (*Bt* y No *Bt*) pertenecieron a las especies *Rachiplusia nu*, *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens*, *Thecla sp.* y *Helicoverpa gelotopoeon*, siendo la primera de ellas la más abundante y de aparición más temprana. El número de huevos obtenido en cada tratamiento muestra una diferencia favorable al cultivar *Bt* con respecto al No *Bt*, diferencias que no son estadísticamente significativas. Los datos recolectados indicarían, que los adultos de lepidópteros no tendrían la capacidad de discriminar entre cultivares con y sin tecnología *Bt*, por lo tanto, la modificación genética que recibieron los materiales *Bt* parece no generar diferencias en cuanto al comportamiento de oviposición de los adultos, resultados que coinciden con los de Biondini (2018). Esto mismo fue observado también por Corbo (2011), quien no encontró diferencias en la oviposición de *A. gemmatalis* y *C. includens* en cultivares de soja *Bt* y No *Bt*. De igual manera Giaveno *et al.*, (2010) demostraron que en cultivos de maíz las hembras de distintos lepidópteros no discriminan entre híbridos *Bt* y No *Bt* al realizar sus oviposiciones. En cuanto a los huevos obtenidos del muestreo de malezas, se observó una alta cantidad de ellos en malva (*Anoda cristata* (L) Schl.), en la cual la única especie encontrada fue *Pyrgus sp.* (lo que marca una elevada especificidad de la especie por esta maleza) (Fig. 17).

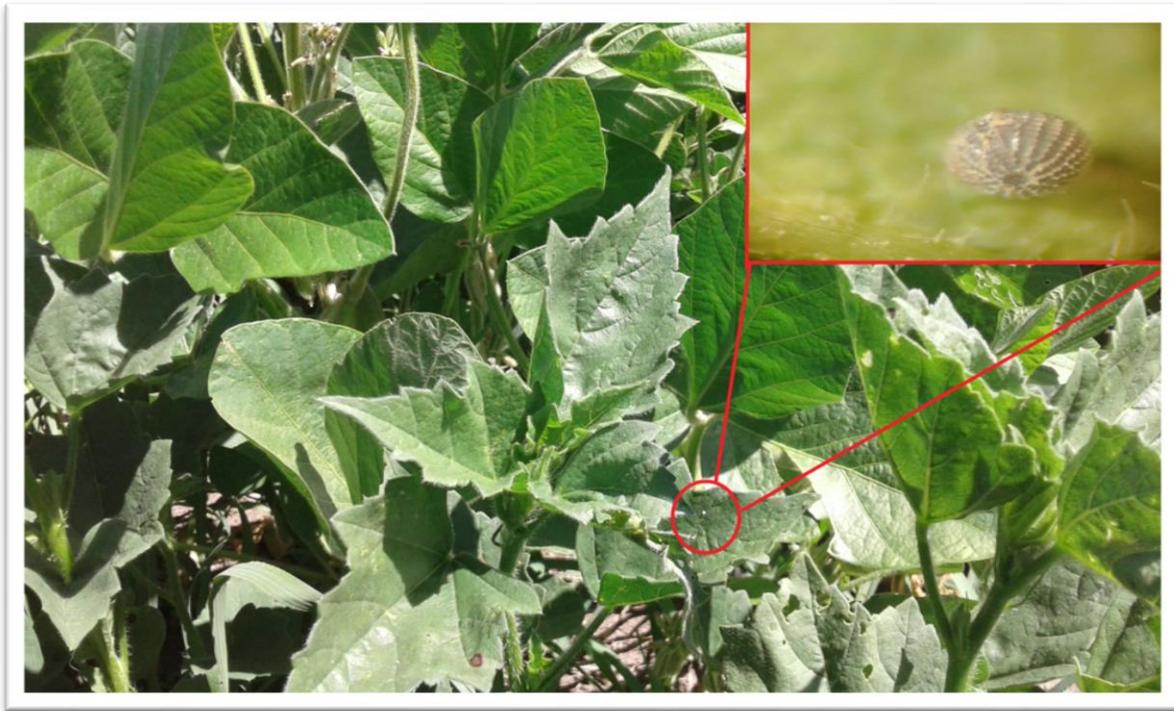


Figura 17. Oviposición de *Pyrgus* sp. en malva.

El parasitoidismo observado para el total de huevos colectados para los cultivares *Bt* y *No Bt* fueron bajos y menores al registrado en otros experimentos (Valverde y Virla 2007; Biondini, 2018). Estos bajos valores obtenidos para ambos tratamientos se pudieron deber al alto valor de parasitoidismo observado sobre la especie *Pyrgus* sp. encontrados en la maleza malva, reflejando la disponibilidad de huevos existentes para los parasitoides (Tabla 2) y la preferencia de los mismos sobre la especie *Pyrgus* sp. El mayor parasitoidismo registrado en el tratamiento con soja *No Bt* no es estadísticamente significativo respecto al encontrado en el tratamiento con soja *Bt* (Tabla 4), por lo que se puede inferir que la capacidad de control de los parasitoides sobre las principales especies de lepidópteros plaga no se vería afectada por el uso de sojas que codifican para la producción de proteínas Cry. Estos resultados concuerdan por los observados por Biondini (2018). Los parasitoides se caracterizan por su especificidad y sincronización con los ciclos vitales de sus huéspedes, convirtiéndose en agentes importantes de control biológico (Godfray, 1994). Al igual que el resto de los parasitoides, el género *Trichogramma* (único género identificado en este experimento) se distribuye en

coincidencia con las oviposiciones de las especies hospederas. De esta manera se puede inferir que los parasitoides no se ven afectados por el cultivo hospedero del lepidóptero, sino que están asociados estrechamente al insecto blanco del parasitoidismo.

Bajo condiciones de laboratorio (temperatura: 25 ± 2 °C; humedad: 70 ± 10 %; fotoperíodo natural) se comprobó que los parasitoides emergidos de huevos parasitoidizados de la especie *Pyrgus* sp., eran capaces de parasitoidizar huevos de las especies *Anticarsia gemmatalis* y *Rachiplusia nu* (Fig. 18. 1, 2). Este experimento demuestra la existencia de un hospedero alternativo que estaría actuando como un reservorio de parasitoides del género *Trichogramma*, los que están en condiciones de parasitoidizar huevos de las dos principales especies plagas en soja.

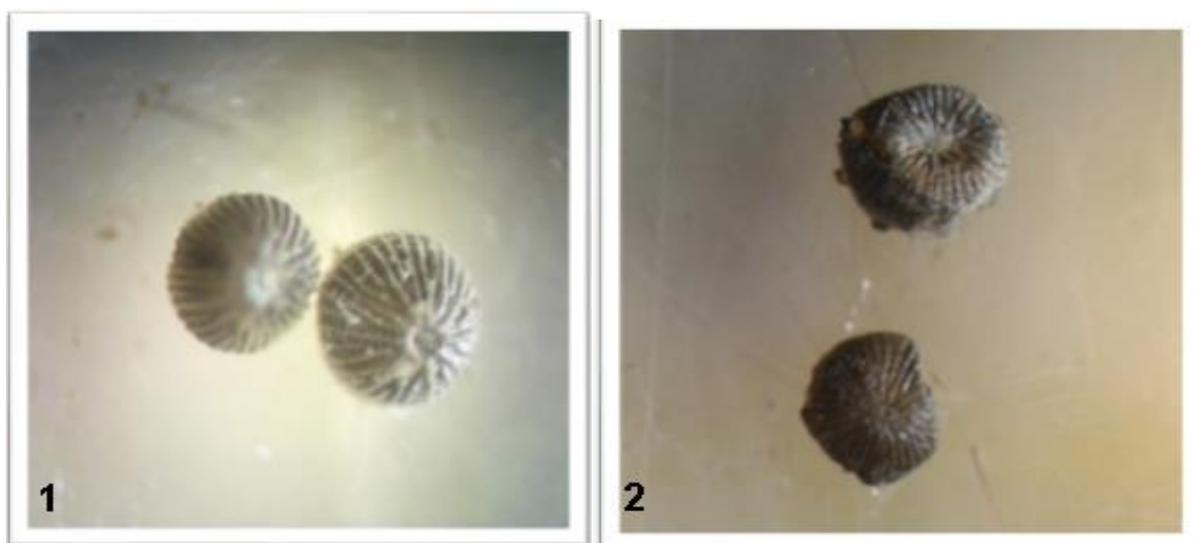


Figura 18. 1) Huevos de *A. gemmatalis* parasitoidizados en laboratorio por parasitoides emergidos de huevos de *Pyrgus* sp. 2) Huevos de *R. nu* parasitoidizados en laboratorio por parasitoides emergidos de huevos de *Pyrgus* sp.

El parasitoidismo obtenido mediante la técnica de plantas centinelas fue nulo, lo que se debería a que los huevos trasladados a las parcelas experimentales constaban en promedio de 24 horas desde su postura lo que los hacía menos seleccionables por los parasitoides. Ruberson y Kring (1993) demostraron como la edad de los huevos de *Helicoverpa zea* (Boddie) afectaban la aceptabilidad e idoneidad del parasitoide *Trichogramma pretiosum*, así como también el tiempo de desarrollo y la supervivencia en huevos de 38 y 62 horas en comparación con huevos de 14 horas. Se sugiere que para

mejorar la eficiencia en la utilización de esta técnica de monitoreo se cuente con una óptima logística, para evitar que los huevos obtenidos y que van a ser blanco del parasitoidismo posean más de 24 horas desde su ovipostura, y de esta manera evitar preferencias en la elección del parasitoide.

El conocimiento sobre preferencias, calidad de posibles hospederos alternativos y el efecto en el comportamiento que las prácticas de manejo tienen sobre el comportamiento de los parasitoides puede generar las bases para el diseño y posible establecimiento de una alternativa de manejo de poblaciones de insectos plaga como parte de un plan de manejo integrado (Peraza Arias, 2011). A través del presente estudio se generó información que contribuye al conocimiento sobre los controladores biológicos de plagas en soja en pos de conservar los servicios ecosistémicos y ayudar a generar una agricultura sustentable.

Este trabajo constituye la primera cita del género *Trichogramma* (Westwood) como parasitoide de huevos de *Pyrgus* sp. en Argentina. Esta relación parasítica ya había sido citada por Pinto (1998) para la especie *Trichogramma interius* sobre *Pygrus comunis* en México y Estados Unidos.

CONCLUSIONES.

Bajo las condiciones experimentales en las que se desarrolló el experimento se concluye que:

- La soja genéticamente modificada (*Bt*-RR) no genera un impacto sobre el control biológico espontáneo ejercido por los parasitoides oófagos de lepidópteros, ya que si bien existió una diferencia entre los tratamientos con soja *Bt* (0 %) y No *Bt* (11,4 %), la misma no fue estadísticamente significativa.
- El cultivo de soja (*Bt*-RR) no modifica la conducta de oviposición de los adultos de lepidópteros.
- El parasitoidismo encontrado sobre huevos de la especie *Pyrgus* sp. hallados en malezas fundamentalmente fue alto (85,6 %), lo que refleja la preferencia de los parasitoides por esta especie.
- El género *Trichogramma* fue el único encontrado parasitoidizando los huevos de lepidópteros en los distintos tratamientos.
- La especie *Pyrgus* sp. actúa como un reservorio de parasitoides del género *Trichogramma* (Westwood), los que están en condiciones de parasitar huevos de las dos principales especies plagas en soja (*A. gemmatalis* y *R. nu*).
- El parasitoidismo obtenido mediante la técnica de plantas centinelas fue nulo, por lo que para mejorar la eficiencia de esta estrategia en el seguimiento de parasitoides de huevos de lepidópteros se sugiere que los huevos blanco del parasitoide posean menos de 24 horas desde su oviposición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- **Alatorre, R; Bravo, H; Leyva, J; Huerta, A. 2000.** Manejo Integrado de Plagas (en línea). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Subsecretaría de Desarrollo Rural. Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. 12 p. Consultado 21 may. 2018. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/desarrolloRural/Documents/fichasaapt/Manejo%20integrado%20de%20plagas.pdf>
- **Albuquerque, G; Tauber, C; Tauber, M. 2000.** *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Life history and potential for biological control in Central and South America. *Biological Control*. 4(1):8-13.
- **Alomar, O; Albajes, R. 2005.** Control biológico de plagas: Biodiversidad funcional y gestión del agroecosistema. *Biojournal.net*. 1: 1-10.
- **Altieri, MA y Letourneau, DK. 1982.** Vegetation management and biological control in agroecosystems. *Crop protection*. 1(4), 405-430.
- **Awmack, C; Leather, S. 2002.** Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*. 47: 817–844.
- **Badii, M; Landeros, J; Cerna, E. 2007.** Manejo Sustentable de Plagas o Manejo Integral de Plagas: Un apoyo al desarrollo sustentable. *Cultura científica y tecnológica*. (23):13-30.
- **BC (Bolsa de Cereales, AR). 2017.** Informe ReTAA N°1-Soja campaña 2016/17 (en línea). Departamento de Investigación y Prospectiva. Bolsa de Cereales, CABA, Argentina. Consultado 7 may. 2018. Disponible en: http://www.bolsadecereales.com/imagenes/retaa/2017/ReTAA-MesN1_Soja_01_11_17.pdf
- **BCR (Bolsa de Comercio de Rosario, AR). 2018.** Informe especial sobre cultivos GEA – Guía Estratégica para el Agro (en línea). Rosario, AR. AÑO IX. N° 098. 4 p. Consultado 5 may. 2018. Disponible en: http://www.bcr.com.ar/GEA%20Archivos%20Diarios/Informes/Informe%20especial%20099%202017_04_11.pdf

- **Biondini, HG. 2018.** Efecto de Soja *Bt* sobre organismos blanco y no blanco: Lepidópteros y los Himenópteros parasitoides de huevos, asociados. Tesis de grado. Pergamino, AR, UNNOBA. 101 p.
- **Botto, E; Segade,G; Nienstidt, K; Cedola, C; Ceriani, S; Carrizo. 1992.** Parasitismo natural de lepidópteros plagas de la soja y de la alfalfa por *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae). En: Resúmenes VIII jornadas Fitosanitarias Argentinas, Paraná.
- **Bravo, A; Gomez, I; Conde, J; Muñoz-Garay, C; Sanchez, J; Miranda, R; Zhuang, M; Gill, SS; Soberon, M. 2004.** Oligomerization triggers binding of a *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab pore-forming toxin to aminopeptidase N receptor leading to insertion into membrane microdomains. *Biochim. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 1667(1):38-46.
- **Bueno, VHP. 2009.** Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. 2ª edição, Revisada e Ampliada. Lavras, BR, UFLA. 430 p.
- **Carballo, M. 2002.** Manejo de insectos mediante parasitoides (en línea). Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. (66):118-122. Consultado 3 ene. 2018. Disponible en: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A2023E/A2023E.PDF>
- **Cavalcante, KR; Togni, PHB; Mencarini, LG; Halterreiten-Souza, ES; Pires, SCS; Fuentes, MEG. 2009.** Impactos do algodão *Bt* no controle biológico natural no Distrito Federal. Encontro do talento estudantil da embrapa recursos genéticos e biotecnología. Brasilia. Resumen 075. p.116.
- **Corbo, E. 2011.** Eficácia da soja geneticamente modificada MON 87701 x MON 89788 com a expressão da proteína Cry1Ac no controle de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) e *Pseudoplusia includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) (en línea). Tesis Mag. Sc. Jaboticabal, BR, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 37 p. Consultado 27 dic. 2018. Disponible en: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/91311/corbo_e_me_jabo.pdf?sequence=1
- **Curis, MC. 2014.** Efecto de los maíces *Bt* sobre las plagas claves, secundarias y los enemigos naturales. Tesis Dr. Santa Fe, AR, UNL.147 p.

- **De Groot, RS; Wilson, MA; Boumans, RM. 2002.** A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecological economics*. 41(3):393-408.
- **Devine, GJ; Eza, D; Ogusuku, E; Furlong, MJ. 2008.** Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas. *Revista peruana de medicina experimental y Salud Pública*. 25(1):74-100.
- **Diaz, BM. 2015.** Control biológico por conservación (en línea). Concordia, AR, INTA. Consultado 28 jul. 2018. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_concordia_control_biologico_por_conservacion.pdf
- **Dicke, M y van Loon, JJ. 2000.** Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia experimentalis et applicata*. 97(3): 237-249.
- **Eilenberg, J; Hajek, A; Lomer, C. 2001.** Suggestions for unifying the terminology in biological control. *BioControl*. 46(4):387-400.
- **Flores, F; Segura, L; Elorriaga, S; Resch, G; Kenny, M; Renaudo, R; López, A. 2015.** Sistema de alarma de plagas agrícolas con trampas de luz y observaciones de campo. Por el lote. Boletín técnico de actualización INTA Marcos Juárez. Informe Técnico N° 1. INTA EEA Marcos Juárez. 2 p.
- **Fernández, F; Sharkey, M. 2006.** Introducción a los Hymenoptera de la Región Neotropical. Sociedad Colombiana de Entomología y Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 894 p.
- **Figueira, LK; Carvalho, CF; Souza, B. 2002.** Influência da temperatura sobre alguns aspectos biológicos de *Chrysoperla externa* (Hagen, 1861) (Neuroptera: Chrysopidae) alimentada com ovos de *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras. Edição Especial. 26: 1439-1450.
- **Foerster, L; Avanci, M. 1999.** Egg parasitoids of *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in soybeans. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 28 (3):545-548.
- **Frias, EA. 1993.** Parasitoides de huevos de lepidópteros noctuidos encontrados en cultivos de soja y su evaluación como agentes de control. *Cirpon*. 9 (1-4):29-35.

- **Gamundi, JC; Perotti, ER; Lago, ME. 2010.** Evaluación del daño conjunto de tres adversidades biológicas de la soja: *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), *Piezodorus guildinii* (Westwood) y *Cercospora sojina* Hara según estrategia de manejo del cultivo. Para mejorar la producción-INTA EEA OLIVEROS. 45:123-126.
- **Gasalla, J. 2017.** El agro liquidó exportaciones por casi USD 24.000 millones en 2016 (en línea). Buenos Aires, ARG, INFOBAE. Consultado 5 may. 2018. Disponible en: <https://www.infobae.com/economia/2017/01/02/el-agro-liquidado-exportaciones-por-casi-usd-24-000-millones-en-2016/>
- **Giaveno, CD; Paravano, AS; Cella, M; Curis, MC. 2010.** Efecto de Diferentes Maíces *Bt* en la Biología de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). FAVE Sección Ciencias Agrarias. 9(1/2): 45-54.
- **Giuggia, JA; Boito, GT; Giovanini, D; Crenna, AC; Gerardo, UA. 2011.** Eficiencia de control de" orugas defoliadoras" en soja (*Glycine max* L.), con insecticidas neurotóxicos y reguladores del crecimiento de los insectos (en línea). Rev. FCA UNCUYO. 43(1):143-153. Consultado 5 may. 2018. Disponible en: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/3917/giuggia.pdf
- **Godfray, HCJ. 1994.** Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. New Jersey, EEUU. 465 p.
- **Google Earth. 2018.** (en línea). Consultado 20 may. 2018. Disponible en: <https://earth.google.com/web>
- **Hamilton, WD. 1967.** Extraordinary sex ratios. Science. 156(3774): 477-488.
- **Hilbeck, A; Moar, WJ; Pusztai-Carey, M; Filippini, AM; Bigler, F. 1998.** Toxicity of *Bacillus thuringiensis* CryIAb Toxin to the Predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Environmental Entomology. 27(5):1255-1263.
- **Ibarra, JE; Del Rincón Castro, MC. 2015.** Mitos y realidades sobre las plantas transgénicas resistentes a insectos. Acta Universitaria. 25(3):13-23.
- **Igarzábal, D; Gálvez, MC. 2014.** ¿Quién cambió el menú? *Spodoptera cosmioides*, una nueva invitada a la mesa de la soja (en línea). Consultado 3 ene. 2018. Disponible en: <http://www.todoagro.com.ar/noticias/nota.asp?nid=27004>
- **INFOSTAT. 2018.** Manual del usuario (en línea). Córdoba, AR, Universidad Nacional de Córdoba. Consultado 6 ene. 2019. Disponible en <http://www.infostat.com.ar>

- **Knutson, A. 1998.** The *Trichogramma* manual. Texas Agricultural Extension Service. The Texas A&M University System. 44 pp.
- **Kogan, M; Shenk, M. 2002.** Conceptualización del manejo integrado de plagas en escalas espaciales y niveles de integración más amplios (en línea) Manejo Integrado de Plagas y Agroecología. (65):34-42. Consultado 3 ene. 2018. Disponible en: <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/5934/A2027e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- **Lobos, E. 2010.** Insecticidas reguladores del crecimiento (IGR'S). Consideraciones para su uso en la protección de cultivos (en línea). Sitio argentino de producción animal. Infoplagas. (6): 1-2. Consultado 3 ene. 2018. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_y_manejo_pasturas/pasturas_combate_de_plagas_y_malezas/119-reguladores_crecimiento.pdf
- **López-Pazos, SA; Cerón, J. 2010.** Proteínas Cry de *Bacillus thuringiensis* y su interacción con coleópteros. Nova. 8(14):183-194.
- **Losey, JE; Rayor, LS; Carter, M. E. 1999.** Transgenic pollen harms monarch larvae. Nature. 399(6733): 214.
- **Luft, E; Luna, MG; Galise, G; Speranza, S; Virla, E. 2015.** Mortalidad natural de huevos de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) en Argentina e Italia, y primera mención de *Encarsia porteri* (Mercet)(Hymenoptera: Aphelinidae) afectando sus poblaciones. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo. 47(2):219-229.
- **Margaría, CB; Loíacono, MS; Lanteri, AA. 2009.** New geographic and host records for scelionid wasps (Hymenoptera: Scelionidae) parasitoids of insect pests in South America. Zootaxa. 2314:41-49.
- **Martínez-Martínez, L; Jarquín, R; Bernal, J. 2006.** Estudios de asignación del sexo en insectos himenópteros parasitoides. En Memoria III encuentro "Participación de la mujer en la ciencia". León, Guanajuato, MX. p. 1-4.
- **Massaro, 2010.** Plagas insectiles del cultivo (en línea). Santa Fe, AR, INTA. EEA Oliveros. p. 95-103. Consultado 6 ene. 2019. Disponible en: <https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-plagas-insectiles-del-cultivo.pdf>

- **Meneses, AR. 2015.** Dinâmica populacional de *Dalbulus maidis* (DELONG & WOLCOTT) (HEMIPTERA: CICADELLIDAE) e seus parasitoides em cultivos de milho no nordeste Brasileiro. Tesis Dra. Teresina, Brasil, PI. 89 p.
- **Mesnage, R; Clair, E; Gress, S; Then, C; Székács, A; Séralini, GE. 2013.** Cytotoxicity on human cells of Cry1Ab and Cry1Ac *Bt* insecticidal toxins alone or with a glyphosate-based herbicide. *Journal of Applied Toxicology*. 33(7):695-699.
- **Michaud, JP. 2018.** Problems Inherent to Augmentation of Natural Enemies in Open Agriculture. *Neotropical entomology*. 47(2):161-170.
- **Molinari, AM; Monetti, C. 1997.** Parasitoides (Hymenoptera) de insectos plaga en soja en el centro sur de la provincia de Santa Fe (Argentina). *Revista Sociedad Entomológica Argentina*. 56 (1-4):43-46.
- **Montserrat, VJ. 2016.** Los crisópidos de la Península Ibérica y Baleares (Insecta, Neuropterida, Neuroptera: Chrysopidae). *Graellsia*. 72(1):1-155.
- **Mulin, E. y Alvarez, K. 2004.** El gran libro de la siembra directa. Editorial Facultad de Agronomía. UBA. 142-147 pp.
- **Navarro, FR; Saini, ED; Leiva, PD. 2009.** Clave pictórica de polillas de interés agrícola. INTA EEA Pergamino (Ed.). 96 p.
- **Nicholls, CI. 2010.** Contribuciones agroecológicas para renovar las fundaciones del manejo de plagas. *Agroecología*. 5:7-22.
- **Olivares, TS; Torres, SA; Zúñiga, LA. 2005.** Morfología de huevos de siete especies de nóctuidos de Chile (Lepidoptera: Noctuidae) y clave actualizada para su identificación. *Revista de biología tropical*. 53 (1-2):153-163.
- **Olivares, FJ; Barea Azcón, JM; Pérez López, FJ; Tinaut Ranera, A; Henares Civantos, I. 2011.** Las mariposas diurnas de Sierra Nevada. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 512 pp.
- **Ovruski, SM; Frias, EA. 1995.** Presencia de *Encarsia porteri* (Hymenoptera: Aphelinida) parasitoidizando huevos de Lepidópteros Noctuidos plagas del cultivo de soja en Tucumán, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*. 54(1-4): 25-29.
- **Paredes, D; Campos, M; Cayuela, L. 2013.** El control biológico de plagas de artrópodos por conservación: técnicas y estado del arte. *Revista Ecosistemas*. 22(1):56-61.

- **Parra, JRP. 2014.** Biological control in Brazil: an overview. *Scientia Agricola*. 71(5):420-429.
- **Pengue, WA. 2001.** Expansión de la soja en Argentina. *Globalización, Desarrollo Agropecuario e Ingeniería Genética: Un modelo para armar*. *Revista Biodiversidad*. 29: 1-25.
- **Peraza Arias, AR. 2011.** Preferencia de hospedero y parámetros de desarrollo de *Copitarsia decolora* sobre plantas seleccionadas para la diversificación del cultivo de Uchuva (*Physalis peruviana*). Tesis de grado. Bogotá, COL, UNC. 40 p.
- **Perotti, E; Gamundi, JC; Lago, ME. 2011.** Evaluación del daño múltiple de tres adversidades biológicas: *Anticarsia gemmatalis* (Hübner), *Caliothrips phaseoli* (Hood) y *Cercospora sojina* Hara, en soja. Para mejorar la producción-INTA EEA OLIVEROS. 46:129-132.
- **Perotti, E; Russo, R; López, R; Zari, F; Pradolini, E; Sanmarti, N; Maccari, G; Boero, L; Gamundi, J. 2014.** Evaluación de estrategias de manejo de refugios asociados a cultivos de soja *Bt* sobre plagas blanco, no blanco y sus depredadores (en línea). INTA EEA OLIVEROS. Consultado 7 may. 2018. Disponible en: <http://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-evaluacin-estrategiasmanejo-refugios-asociados-.pdf>
- **Permingeat, H y Margarit, E. 2005.** Impacto ambiental de los cultivos genéticamente modificados: el caso del maíz *Bt*. *Revista de Investigaciones de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNR*. 5(7): 33-44.
- **Peterson, A. 1964.** Eggs types among moths of the Noctuidae (Lepidoptera). *The Florida Entomologist*. 47(2):71-91.
- **Pilcher, CD; Rice, ME; Obrycki, JJ. 2005.** Impact of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn and crop phenology on five nontarget arthropods. *Environmental Entomology*. 34(5):1302-1316.
- **Pinto, JD. 1998.** Systematics of the North American species of *Trichogramma* (Westwood) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Memoirs of the Entomological Society of Washington*. 22:1-287.
- **Querino, RB y Zucchi, RA. 2011.** Guia de identificação de *Trichogramma* para o Brasil. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília. 103 p.

- **Ribeiro, A. 2010.** Prospección de agentes para el control natural de plagas en sistemas agrícola-pastoriles. In Altier, N; Rebuffo, M; Cabrera, K. eds. Enfermedades y plagas en pasturas. Montevideo, UR, INIA. (Serie Técnica N° 183). p. 105-109.
- **Ribera, I y Melic, A. 2015.** Orden Neuroptera ss (Planipennia) (en línea). Revista IDE@-SEA. (58):1-12. Consultado 6 ene. 2019. Disponible en: http://molevol.cmima.csic.es/ribera/pdfs/IDE@_58.pdf
- **Rosas, JC y Young, R. 1991.** El cultivo de la soya. Tercera Edición. Honduras, Escuela Agrícola Panamericana-El Zamorano. 62 p.
- **Ruberson, JR y Kring, TJ. 1993.** Parasitism of developing eggs by *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae): host age preference and suitability. Biological Control. 3(1):39-46.
- **Sauka, DH y Benintende, GB. 2008.** *Bacillus thuringiensis*: generalidades: Un acercamiento a su empleo en el biocontrol de insectos lepidópteros que son plagas agrícolas. Revista argentina de microbiología. 40(2):124-140.
- **Schoonhoven, LM; Van Loon, JJA; Dicke, M. 2005.** Insect-plant biology. 2 ed. Wageningen University, The Netherlands. 421 p.
- **Schuler, TH; Potting, RP; Denholm, I; Poppy, GM. 1999.** Parasitoid behaviour and *Bt* plants. Nature. 400(6747):825.
- **Smith, RF; Hagen, KS. 1956.** Enemies of spotted alfalfa aphid: Lady beetles, hover flies, lacewings are there important native predators of aphids and other economic pests of alfalfa. California Agriculture. 10(4):8-10.
- **Thies, C; Tschardtke, T. 1999.** Landscape structure and biological control in agroecosystems. Science. 285(5429):893-895.
- **Trigo, E. 2016.** Veinte años de cultivos genéticamente modificados en la Agricultura Argentina (en línea). ArgenBio, CABA, Argentina. Consultado 7 may. 2018. Disponible en: http://argenbio.org/adc/uploads/20GM_2016/Informe_20GM_web.pdf
- **Trivers, RL; Willard, DE. 1973.** Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. Science. 179(4068): 90-92.
- **Urretabizkaya, N; Vasicek, A; Saini, ED. 2010.** Insectos Perjudiciales de Importancia Agronómica: I. Lepidópteros. Buenos Aires, AR, Ediciones INTA. 47p.

- **Valencia Luna, LA; Romero Nápoles, J; Valdez Carrasco, J; Carrillo Sánchez, JL; López Martínez, V. 2006.** Taxonomía y registros de Chrysopidae (Insecta: Neuroptera) en el estado de Morelos, México. *Acta Zoológica Mexicana*. 22(1): 17-61.
- **Valverde, L. 2007.** Abundancia y distribución de los huevos de las principales especies de lepidópteros noctuidos plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina (en línea). *Boletín de Sanidad Vegetal (Plagas)*. 33: 163-168. Consultado 3 ene. 2018. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/28282843_Abundancia_y_distribucion_de_los_huevos_de_las_principales_especies_de_lepidopteros_noctuidos_plagas_en_el_cultivo_de_soja_en_Tucuman_Argentina
- **Valverde, L; Virla, EG. 2007.** Parasitismo natural de huevos de las principales especies de Noctuidae (Lepidoptera) plagas en el cultivo de soja en Tucumán, Argentina (en línea). *Boletín de Sanidad Vegetal (Plagas)*. 33(4):469-476. Consultado 3 ene. 2018. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2562043>
- **Van Drische, RG; Hoddle, MS; Center, TD. 2007.** Control de Malezas y Plagas por Enemigos Naturales. Ruiz Cancino, E; Coronada Blanca, J; Alvarez JM. Washington, USA, US Department of Agriculture, US Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team. 737 p.
- **Van Lenteren, JC; Bolckmans, K; Köhl, J; Ravensberg, WJ; Urbaneja, A. 2018.** Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*. 63(1):39-59.

ANEXOS.

ANEXO I.

Pyrgus sp.

Esta especie pertenece al Orden Lepidoptera, Familia HesperIIDae, Subfamilia Pyrginae, Tribu *Pyrgini*.

La Familia HesperIIDae está formada por un grupo de mariposas de tamaño pequeño (entre 2 y 3,5 cm. de envergadura), poco vistosas y dotadas de un vuelo rápido. Es común encontrarlas en las proximidades de los cursos de agua, aunque algunas de ellas fueron reportadas en zonas relativamente áridas y distantes. Se caracterizan por presentar alas anteriores relativamente pequeñas y triangulares que al posarse se sitúan perpendiculares, o casi, a las posteriores que son circulares. Este modo de mantener las alas en reposo es inusual en el conjunto de los lepidópteros. Poseen además, una cabeza ancha y con las antenas separadas en la base. El dimorfismo sexual es inexistente o, al menos, prácticamente indistinguible. La coloración es en general poco llamativa, predominando los colores pardos, ocres o negros. Las larvas son fusiformes con la cabeza engrosada con respecto al tronco (Fig. 19. 2). Prácticamente sin quetas. Empupan en las hojas, enrollándolas y en algunas especies tejiendo un capullo. Se alimentan de diferentes herbáceas, tales como *Potentilla* sp. (Linneo) (Rosales: Rosaceae), *Convolvulus* sp. (Linneo) (Solanales: Convolvulaceae), *Malva* sp. (Linneo) (Malvales: Malvaceae), *Phlomis* sp. (Linneo) (Lamiales: Lamiaceae), etc. Esta familia de mariposas no ha sido muy investigada, por lo que se desconocen muchos de sus aspectos biológicos y ecológicos, así como de distribución de las distintas especies (Olivares *et al.*, 2011).

El género *Pyrgus* (Hübner) comprende un grupo de especies muy similares y de difícil identificación taxonómica, que en muchos casos requiere el estudio de la estructura genital. Las mariposas pertenecientes a este género se caracterizan porque las alas anteriores son triangulares y ligeramente puntiagudas. Las alas anteriores como las posteriores presentan el borde externo de color blanco interrumpido por líneas de color negro que se corresponden con las venaciones alares. Las alas anteriores y posteriores

tienen un fondo de color negro-pardo grisáceo en el que se destacan unas manchas blancas irregulares. El reverso de las alas es de fondo pardo-gris, con los bordes algo amarillentos y con el mismo patrón de manchas blancas que en el anverso. Las hembras son ligeramente mayores que los machos (Fig. 19. 4) (Olivares *et al.*, 2011).

Para el Hemisferio norte se registran dos generaciones anuales: una en primavera y otra en verano. La larva se ha citado sobre diversas plantas pertenecientes a los géneros *Potentilla* spp., *Fragaria* spp., *Malva* spp. y *Agrimonia* spp. (Linneo) (Rosales: Rosaceae). Construye un refugio con hojas y seda en el cual se protege durante el día y se alimenta durante la noche. La fase invernante es la pupa, que se encuentra en el suelo o entre los tallos de la planta nutricia protegida por un capullo (Olivares *et al.*, 2011).

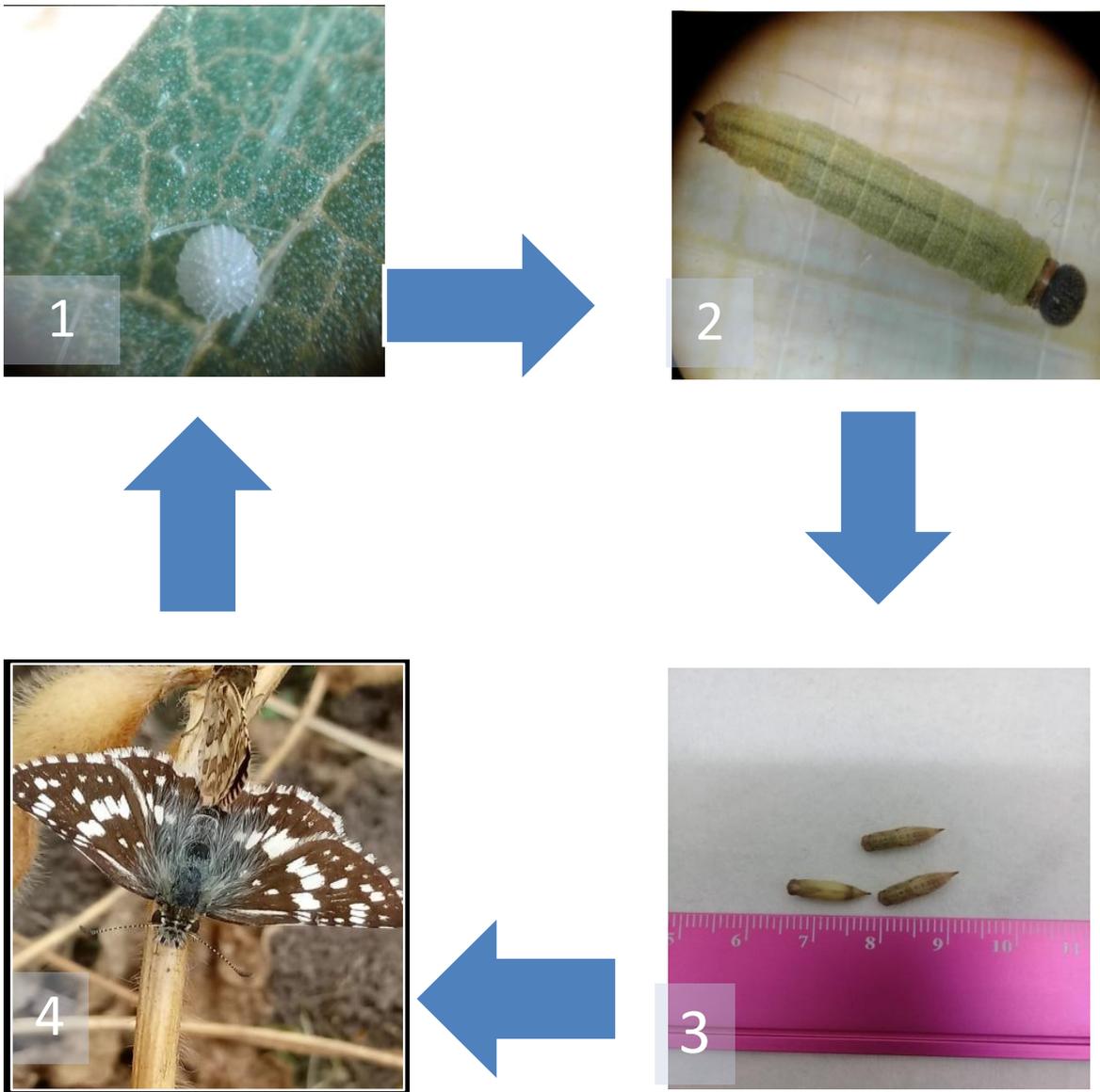


Figura 19. Ciclo biológico *Pyrgus* sp. en Pergamino. 1) Huevo. 2) Larva. 3) Crisálida. 4) Adulto.

ANEXO II.

Proporción de sexos.

Algunos himenópteros tienen una reproducción de tipo partenogenética haploide que puede ser de tres tipos:

1. Arrenotoquia o haplo-diploide donde los huevos haploides dan origen a machos y los huevos fertilizados, diploides, darán origen a hembras.
2. Deuterotoquia, donde las hembras sin aparear producen machos y hembras.
3. Telitoquia, donde en la población solo hay hembras haploides.

La mayoría de los himenópteros parasitoides tienen reproducción arrenotóquica, en el cual las hembras pueden regular la abertura de su espermateca para liberar o no espermatozoides y de esta forma fertilizar o no a sus óvulos. Por consiguiente, la hembra tiene el control en la asignación del sexo a su progenie (Martínez *et al.*, 2006).

Existen en la actualidad dos teorías sobre la asignación de sexos, la de “Calidad del Hospedero”, propuesta inicialmente por Trivers y Willard (1973) la cual postula que cuando el hospedero varía en cantidad de recurso, las hembras asignan el sexo que mayores beneficios obtenga en función del recurso encontrado, y la de la “Competencia Local por Apareamiento”, postulada por Hamilton (1967), en la cual la proporción de sexos producida varía de acuerdo al número de hembras que explota una superficie. Además, otros factores pueden afectar la proporción sexual de los parasitoides entre los que se encuentran: temperatura, fotoperíodo, problemas en el control de la espermateca o el agotamiento de los espermatozoides, presencia de microorganismos, superparasitismo y la variación genética en la asignación del sexo (Martínez *et al.*, 2006).

El estudio de la asignación del sexo en los parasitoides permite estimar el balance poblacional que las hembras pueden ejercer sobre la población hospedera. El conocimiento de los factores que regulan la asignación del sexo de los parasitoides ayuda

a hacer más eficiente en el uso y conservación de los parasitoides como controladores biológicos de plagas (Martínez *et al.*, 2006).

Con el fin de determinar si los distintos hospederos modificaban la proporción de sexos se identificó y sexó a cada uno de los parasitoides emergidos de los distintos huevos de lepidópteros hallados. La proporción de sexos de los parasitoides emergidos se determinó como: número de hembras /número de hembras + número de machos.

El resultado de la identificación de los parasitoides determinó que el 100% de ellos correspondían al género *Trichogramma*. En la tabla 5 y figura 20 se analiza la proporción de sexos de los parasitoides encontrados para cada especie de Lepidóptero.

Tabla 5. Análisis de la Varianza para la proporción de sexos de los parasitoides según la especie hospedante.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Proporción (♀/♂+♀)	116	0.02	0.00	55.50

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
Modelo	0.21	3	0.07	0.63	0.5984
Hospedante	0.21	3	0.07	0.63	0.5984
Error	12.69	112	0.11		
Total	12.91	115			

Test:LSD Fisher Alfa=0.05 DMS=0.64024

Error: 0.1133 gl: 112

Hospedante	Medias	N	E.E.	
<i>A.gemmatalis</i>	1.00	1	0.34	A
<i>C.includens</i>	0.75	2	0.24	A
<i>R.nu</i>	0.67	3	0.19	A
<i>Pyrgus sp.</i>	0.60	110	0.03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

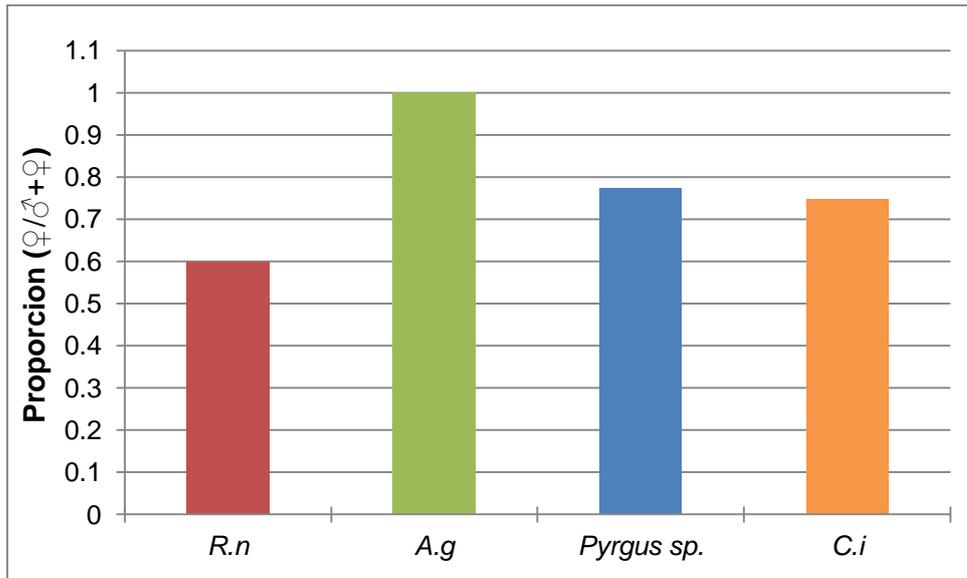


Figura 20. Proporción de sexos de los parasitoides encontrados para cada especie hospedante.

La proporción de sexos de los parasitoides del género *Trichogramma* recolectados de los huevos de las diferentes especies hospedantes varió de 0,6 en *Rachiplusia nu* a 1 en *Anticarsia gemmatalis*, diferencias que no son estadísticamente significativas (Tabla 5), por lo que se puede inferir que la especie hospedante no modifica la proporción de sexos de los parasitoides emergidos. Estos datos deben ser corroborados y validados en los años posteriores, ya que el R^2 es demasiado bajo, por lo que el modelo no explica fielmente las diferencias observadas para la variable proporción de sexos. Esto se debe a que el número de huevos parasitados obtenidos para las especies *Anticarsia gemmatalis*, *Rachiplusia nu* y *Chrysodeixis includens* es bajo.

ANEXO III.

Seguimiento de huevos de *Chrysoperla* spp. (Steinmann).

Chrysoperla sp. o también denominada vulgarmente crisopa, es un insecto perteneciente al Orden Neuroptera, Familia Chrysopidae.

Son insectos holometábolos, con metamorfosis completa y habitualmente tres estadios larvarios (Fig. 21). Para pupar construyen capullos ovalados o esféricos con seda, a menudo cementada con partículas del sustrato adheridas. Para la emergencia, el adulto corta el capullo con sus mandíbulas. Las larvas son depredadoras, particularmente de pequeños insectos de cuerpo blando, a los que penetran con las mandíbulas para después succionar el contenido de su cavidad corporal. Son depredadores generalistas. Los huevos de los Chrysopidae se colocan al extremo de un filamento largo y rígido pero flexible, que se sujeta por el otro extremo a la vegetación. Esto hace que pasen desapercibidos para algunos depredadores –como las hormigas–, que al circular por las ramas o las hojas solo encuentran a estos filamentos (aparentemente poco atractivos), sin percatarse de que en su extremo está el huevo con el embrión en desarrollo. Las posturas son verdes después de la oviposición, se tornan oscuras durante el desarrollo del embrión y después de la eclosión se observa el corion de color blanco (Fig. 22) (Ribera y Melic, 2015).

Poseen elementos crípticos muy marcados, la coloración verde es generalizada en esta familia, por lo que logran confundirse con el entorno vegetal sobre el que habitualmente se hallan los adultos (Monserrat, 2016).

El periodo embrionario dura aproximadamente cinco días, la fase larvaria 10 días y la fase de pupa cerca de 11 días. Las hembras pueden oviponer más de 1200 huevos a lo largo de su periodo de vida, que puede ser superior a los 100 días (Figueira *et al.*, 2002).

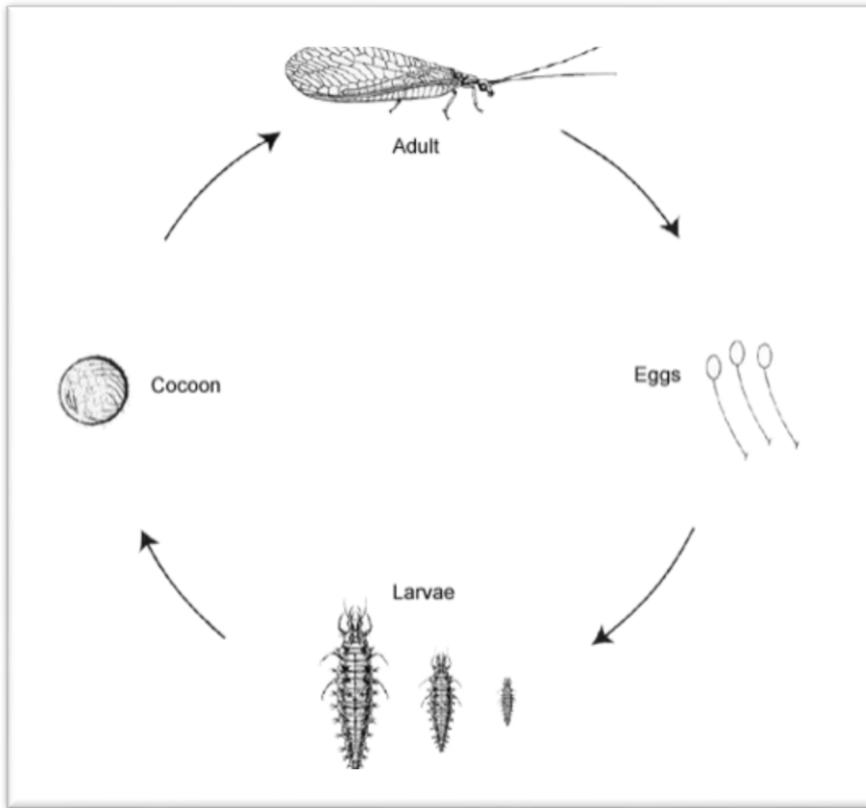


Figura 21. Ciclo biológico *Chrysoperla* spp. (Extraído de Smith y Hagen, 1956)



Figura 22. Huevo eclosionado de *Chrysoperla* spp.

Los adultos de este género pueden ser descritos por su cabeza, tórax, patas, alas, abdomen y genitalia (Valencia Luna *et al.*, 2006).

En su fase de larva, los neurópteros se alimentan de huevos, orugas neonatas, pulgones, trips, ácaros y otros artrópodos de tamaño pequeño y de tegumento fácilmente perforable, que localizan a través de secreciones, kairomonas, alomonas y/o feromonas emitidas. En el estado adulto, su dieta se compone de néctar y polen (Montserrat, 2016).

Las especies del género *Chrysoperla* son usadas y tenidas en cuenta en sistemas de manejo integrado de plagas en todo el mundo, debido a la diversidad de ambientes donde son capaces de desarrollarse y a la multiplicidad de presas que constituyen su alimento (Albuquerque *et al.*, 2000).

Para la especie *Chrysoperla externa*, Ribeiro (2010) determinó que altos niveles poblacionales pueden desarrollarse en primavera sobre cultivos como avena, alfalfa y cebada, mientras que en verano y otoño puede hacerlo sobre alfalfa, soja y campo natural.

Massaro (2010) cita a las crisopas como uno de los predadores más importantes en el cultivo de soja, entre las que destaca su acción sobre orugas pequeñas, uno de los principales componentes de su dieta.

La creciente adopción de cultivos que expresan el gen que codifica las toxinas Cry (*Bt*), generan una modificación en los agroecosistemas, ya que reducen el número de presas del Orden Lepidoptera sensibles a esta tecnología.

Con el fin de poder determinar el efecto que esta modificación en el medio produce sobre el género *Chrysoperla*, se realizó un seguimiento de las poblaciones de huevos en cultivos de soja que expresan las toxinas Cry y cultivos que no cuentan con esta modificación.

Para ello, durante el mismo ensayo (Fig. 23), y a partir de los mismos monitoreos realizados se colectaron y registraron los huevos de crisopas en los folíolos.



Figura 23. Plano del ensayo. Imagen extraída de Google Earth (Google, 2018).

Del análisis de los datos obtenidos se desprenden la Tabla 6 y la figura 24.

Tabla 6. Análisis de la Varianza para las poblaciones de huevos de crisopas encontradas en cultivos de soja *Bt* y No *Bt*.

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F. V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	28,14	19	1,48	1,47	0,1014
Tiempo	16,66	7	2,38	2,37	0,0250
Tratamiento	3,16	1	3,16	3,14	0,0781
Estación	8,33	11	0,76	0,75	0,6860
Error	160,81	160	1,01		
Total	188,95	179			

Test:LSD Fisher Alfa=0,05 DMS=0,29737

Error: 1,0050 gl: 160

Tratamiento	Medias	n	E. E.	
<i>Bt</i>	0,32	79	0,11	A
No <i>Bt</i>	0,67	101	0,10	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

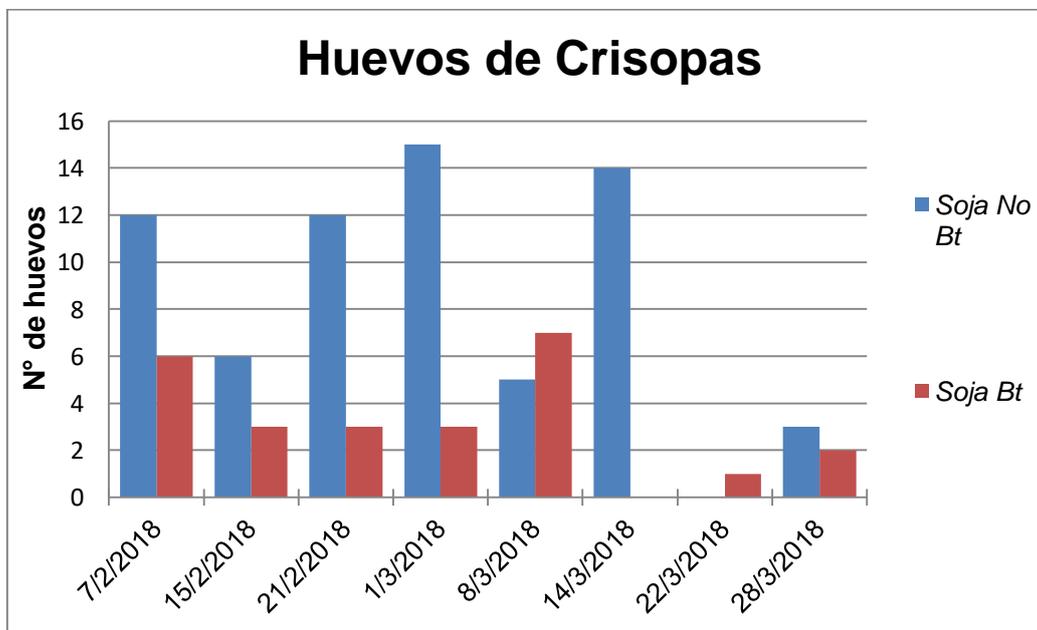


Figura 24. Numero de huevos colectados para cada fecha de monitoreo en cada cultivar (*Bt* y No *Bt*).

El resultado del análisis estadístico de los datos permite diferenciar las poblaciones de huevos de crisopas ocurridas en el tratamiento con soja No *Bt* de aquellas ocurridas en el tratamiento que contenía soja *Bt* (Tabla 5). Estas diferencias se representan gráficamente en la figura 24. Las desigualdades observadas para ambos tratamientos en el número de huevos de crisopas se deben posiblemente a una menor cantidad de alimento (representado fundamentalmente por larvas pequeñas de lepidópteros) encontrado en la macroparcela con soja *Bt*. Este comportamiento puede ser explicado también, por un mayor nivel de daño en plantas de la macroparcela con soja No *Bt*, con la consiguiente síntesis y liberación de aleloquímicos en respuesta al daño ocasionado por las larvas del Orden Lepidoptera, como también a las secreciones salivales de los herbívoros, que generalmente son compuestos volátiles, los cuales al igual que los aleloquímicos liberados por las plantas pueden ser percibidos por los predadores a los que son capaces de atraer (Dicke y van Loon, 2000; Curis, 2014).

Estos resultados indicarían un cambio en hábito de oviposición de las crisopas influenciado fundamentalmente por el cambio en el agroecosistema generado por el cultivo de sojas *Bt*, los que son coincidente a los encontrados por Curis (2014) sobre cultivos de maíz *Bt* y no *Bt*, y ambos contrastan a los encontrados por Pilcher *et al.*, (2005) en los cuales no se encontraron diferencias en la abundancia in situ de *Chrysoperla carnea* (Stephens) en cultivos maíz transgénico (*Bt*) y convencional, por lo que sería necesario continuar con este análisis los años siguientes para evaluar si este comportamiento se mantiene en el tiempo.