

# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en Ciencias Agrarias

# DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE MONITOREO AUTOMÁTICO DE CHINCHES (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) EN CULTIVOS DE SOJA

## Biól. LUCIANA VANESA BOLLATI

Director de Tesis: Dr. Gerardo R. Marchesini

Co-director de Tesis: Dra. Isabel Bertolaccini

Comisión Asesora de Tesis: Dra. Adriana Salvo

Lugar de realización:

Centro de Investigación Tecnológico Empresarial y Social (CITES - GSS)

# Agradecimientos

A mi director, Gerardo Marchesini y a mi co-directora, Isabel Bertolaccini, por su confianza depositada en mí, por guiarme y acompañarme durante el desarrollo de esta tesis.

A Sergio Simonetta por ser quien me dio la oportunidad y confianza para llevar adelante este proyecto.

A Nicolás Tognialli y a todo el equipo de CITES por contribuir a mi crecimiento profesional brindándome todo lo necesario para poder llevar a cabo esta tesis. Además, por acompañarme en todos estos años y sobre todo por las amistades que surgieron allí dentro.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) que, junto con CITES, me otorgaron la beca de postgrado que me permitió dedicarme a mi doctorado y a la investigación durante estos a años.

A la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Litoral, por brindarme formación profesional y permitirme realizar el Doctorado en Ciencias Agrarias.

A mi amigo y socio Daniel, por su colaboración en el desarrollo de las trampas y los ensayos a campo y por todo el trabajo realizado, por los largos viajes y experiencias compartidas.

A los amigos que fui ganando gracias a este proyecto y que me nutrieron de sus consejos, experiencias y cariño.

A mi familia, siempre incondicional, poniendo toda su confianza en mí, alentándome, aconsejándome y apoyándome en todo momento.

A mi marido Franco, por su amor, su compañerismo, paciencia y apoyo durante todos estos años, por alentarme y estar siempre a mi lado.

A mis hijos Bauti y Beni, que me acompañaron desde la panza en todo este recorrido y fueron mi motor para seguir adelante en los momentos más complicados.

Simplemente gracias a cada persona que forma parte de mi vida.

# Tribunal Evaluador

Dra. Marcela Inés Schneider

Dra. Silvia Adriana Salvo

Dra. María Gabriela Murúa

# Índice General

Agradecimientos	2
Tribunal Evaluador	3
Índice de Figuras	8
Índice de Tablas	14
Abreviaturas	16
Resumen	18
Abstract	21
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL Y ANTECEDENTES	24
1. Antecedentes	25
1.2. Cultivos extensivos en la Argentina: La soja	28
1.3. Principales insectos plagas que afectan la soja	31
1.4. Las especies bajo estudio y su incidencia en el cultivo de soja	35
1.4.1. Nezara viridula	37
1.4.1.a) Características generales	37
1.4.1.b) Forma de alimentación y característica de los daños en soja	41
1.4.2. Piezodorus guildinii	42
1.4.2.a) Características generales	42
1.4.2.b) Forma de alimentación y característica de los daños en soja	44
1.4.3. Control de pentatómidos plaga en el cultivo de soja con énfasis en las	
especies en estudio.	44
1.5. Métodos de monitoreo de plagas actuales	47
1.5.1. Métodos convencionales: Ventajas y desventajas de su uso	47
1.5.1.1. Manejo Integrado de Plagas (MIP)	50
1.5.1.1.a) Control Biológico	50
1.5.2. Métodos automatizados: Ventajas y desventajas de su uso	51
1.5.2.1. Ventajas y desventajas de las nuevas tecnologías para el monitoreo	
y control de plagas	56
2. Hipótesis	57

3. Objetivos	57
3.1. Objetivo General	57
3.2. Objetivos Específicos	57
CAPÍTULO 2: DESARROLLO DE TRAMPAS ELECTRÓNICAS PARA EL MONITOREO AUTOMATIZADO DE INSECTOS PLAGA	59
1. Resumen	60
2. Introducción	60
3. Resumen del Sistema	61
3.1. Evolución en el diseño estructural de las trampas electrónicas	63
3.2. Descripción del sistema electrónico	67
3.2.1. Componentes utilizados para la fabricación de las trampas	67
3.2.2. Evolución en el desarrollo electrónico: De la detección a la identificaci	ón
por imágenes	71
3.3. Evolución en la recepción y visualización de los datos	80
4. Discusión y Conclusiones	84
CAPÍTULO 3: USO DE DIFERENTES ATRAYENTES PARA EL MONITORI	E <b>O</b>
DE CHINCHES FITÓFAGAS	86
1. Resumen	87
2. Introducción	87
3. Materiales y Métodos	89
3.1. Sitio de recolección de diferentes estadios fenológicos de N. viridula y	
P. guildinii	89
3.2. Acondicionamiento en laboratorio de la cría de ambas especies de chinches	90
4. Uso de diferentes atrayentes	92
4.1. Feromona sexual comercial de Euschistus heros	92
4.1.1. Materiales y Métodos	92
4.1.2. Resultados	94
4.1.3. Discusión y Conclusiones	95
4.2. Extracción de feromona sexual de Nezara viridula	96

4.2.1. Materiales y Métodos	96
4.2.2. Análisis de la muestra por GC/MS	97
4.2.3. Resultados	97
4.2.4. Conclusiones	98
4.3. Preferencia de colores	99
4.3.1. Introducción	99
4.3.2. Materiales y Métodos: Ensayos en laboratorio	99
4.3.2.1. Resultados	102
4.3.3. Materiales y Métodos: Ensayos a campo	104
4.3.3.1. Resultados	105
4.3.4. Discusión y Conclusiones	106
CAPÍTULO 4: MONITOREO AUTOMATIZADO DE CHINCHES FITÓFAGAS	
EN CULTIVOS DE SOJA	108
1. Resumen	109
2. Introducción	109
3. Materiales y Métodos	111
3.1. Sitio de ensayos	111
3.2. Eficiencia de trampas electrónicas vs paño vertical	112
4. Resultados	117
5. Discusión y Conclusiones	122
CAPÍTULO 5: <i>HEXACLADIA SMITHII</i> (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE)	
CONTROLADOR BIOLÓGICO DE PENTATÓMIDOS FITÓFAGOS	125
1. Resumen	126
2. Introducción	126
2.1. Principales parasitoides de la familia Pentatomidae	128
2.2. Antecedentes de Hexacladia smithii Ashmead	129
3. Materiales y Métodos	130
4. Resultados y Discusión	132
4.1. Especies parasitoidizadas vs no parasitoidizadas	132

4.2. Carga parasitaria por individuo y especie	135
4.3. Porcentaje de mortalidad	135
4.4. Tiempo de supervivencia en parasitoidosis	135
5. Conclusiones	136
CAPÍTULO 6: EFICIENCIA DE LAS TRAMPAS ELECTRÓNICAS PARA EL MONITOREO DE OTROS INSECTOS PLAGA: LEPIDÓPTEROS	137
1. Resumen	138
2. Introducción	138
3. Materiales y Métodos	141
3.1. Ensayos comparativos con trampas electrónicas para el monitoreo de	
Carpocapsa	141
3.2. Ensayos comparativos con trampas electrónicas para el monitoreo de	
Lobesia botrana	145
4. Resultados	147
4.1. Ensayos con carpocapsa, plaga de la manzana y la pera	147
4.2. Ensayos con Lobesia botrana, plaga de la vid	151
5. Discusión y Conclusiones	153
CONCLUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS	155
BIBLIOGRAFÍA	156
ANEXOS	180
ANEXO I: PATENTE Y PUBLICACIONES CIENTÍFICAS	181
1. Patente	181
2. Publicaciones relacionadas con la Tesis	181
3. Publicaciones no relacionadas con la Tesis	181
ANEXO II: OLFATÓMETROS. EVOLUCIÓN EN EL DISEÑO	183
ANEXO III: EXTRACCIÓN DE FEROMONA DE NEZARA VIRIDULA	186

# Índice de Figuras

Figura 1	Distribución geográfica de la superficie (en ha) sembrada con soja por departamento en Argentina (2021-2022).	30
Figura 2.	Evolución histórica de la producción y área sembrada de soja en Argentina.	31
Figura 3.	Morfotipos principales de <i>Nezara viridula</i> (adultos). A) <i>var. smaragdula</i> Fabricius. B) <i>var. torquata</i> Fabricius. C) <i>var. aurantiaca</i> Costa.	38
Figura 4.	Huevos y estadios ninfales d <i>e Nezara viridula</i> . A) Ovipostura hexagonal donde se observan las ninfas (rojo) en su interior. B) Ninfa Estadio I. C) Ninfa Estadio II. D) Ninfa Estadio III. E) Ninfa Estadio IV. F) Ninfa Estadio V.	39
Figura 5.	Diferencia morfológica según el sexo de <i>Nezara viridula</i> . Izquierda Macho. Derecha Hembra.	40
Figura 6.	Huevos y estadios ninfales d <i>e Piezodorus guildinii</i> . A) Ovipostura en dos hileras paralelas. B) Ninfa Estadio I. C) Ninfa Estadio V. D) Adulto.	43
Figura 7.	Prototipo de trampa 1. A y B) Trampas con sus diferentes colores. C y D) Detalle de los sensores ubicados en la parte inferior del embudo colector.	63
Figura 8.	Prototipo de trampa 2. A) Trampa. B) Detalle de los diferentes componentes y secciones de la trampa. C) Detalle de los sensores ubicados en la parte inferior del embudo colector.	64
Figura 9.	Prototipo de trampa 3 con su respectivo panel solar y la electrónica colocada en una caja estanca junto al panel.	65
Figura 10.	Prototipo de trampa 4. A) Trampa con su respectivo panel solar. B) Detalle del dispositivo eléctrico.	65
Figura 11.	Prototipo de trampa 5. A) Trampa de color blanco con su respectivo panel solar. B) Trampa de color azul con su respectivo panel solar. C) Lámina pegajosa para la adherencia de los insectos.	66

Figura 12.	Detalle de la electrónica para cada trampa del Prototipo 1 y 2.	72
Figura 13.	Modelo de comunicación entre las trampas y la Base de los Prototipos 1 y 2 y la obtención de la información.	73
Figura 14.	Electrónica correspondiente a la Base del Prototipo 1 y 2. A) Detalle del diseño de la placa electrónica. B) Placa electrónica. C) Base en recipiente plástico en campo de soja.	73
Figura 15.	Electrónica correspondiente a la trampa del Prototipo 3.	74
Figura 16.	Modelo de comunicación entre las trampas y la Base del Prototipo 3 y la obtención de la información.	75
Figura 17.	Detalle de la electrónica de la Base del Prototipo 3.	75
Figura 18.	Detalle de la electrónica correspondiente a la trampa del Prototipo 4.	76
Figura 19.	Modelo de comunicación entre las trampas y la Base del Prototipo 4 y la obtención de la información (Fuente: elaboración propia).	77
Figura 20.	Detalle de la electrónica correspondiente a la Base del Prototipo 4	78
Figura 21.	Detalle de la placa electrónica correspondiente a la trampa del Prototipo 5.	79
Figura 22.	Modelo de comunicación entre las trampas y la Base del Prototipo 5 y la obtención de la información.	79
Figura 23.	Visualización de los datos en una computadora de los Prototipos 1, 2 y 3.	80
Figura 24.	Datos registrados por la base de 1° Generación, de acuerdo a la fecha, ID de la trampa y número de capturas obtenidas cada una hora en cada trampa.	81
Figura 25.	Datos registrados por la Base de 2° Generación, de acuerdo a la fecha, hora de encendido, detección de algún problema, ID de la trampa y número de capturas acumuladas en cada trampa.	82
Figura 26.	Visualización en una computadora de las imágenes tomadas por una trampa de varios días consecutivos, en donde se puede	83

	indica el día y la hora en la que fue tomada la fotografía.	
Figura 27.	Ubicación de las localidades Sunchales y Rafaela a nivel nacional y provincial.	89
Figura 28.	Técnica de paño vertical para muestreo y recolección de chinches. A y B) Recolección de <i>Piezodorus guildinii</i> y <i>Nezara viridula</i> en campo de soja.	90
Figura 29.	Cría en laboratorio de huevos, ninfas y adultos de <i>Nezara viridula</i> y <i>Piezodorus guildinii</i> .	91
Figura 30.	Cebo de feromona sexual de <i>Euschistus heros</i> de la Empresa Chem Tica Internacional S.A.	92
Figura 31.	Olfatómetro. A) Diseño. B) Olfatómetro. C) Olfatómetro en funcionamiento	94
Figura 32.	Eficiencia como atrayente de la feromona comercial de Euschistus heros sobre Nezara viridula y Piezodorus guildinii.	95
Figura 33.	Sistema de recolección de volátiles generados por machos de <i>Nezara viridula</i> .	96
Figura 34.	Ensayo con papeles de colores como tratamiento y blanco como control. A) Ensayos con <i>Nezara viridula</i> . B) Ensayos con <i>Piezodorus guildinii</i> .	100
Figura 35.	Ensayo con led de colores azul y verde como tratamiento y blanco como control.	101
Figura 36.	Preferencia de color según elección de <i>Piezodorus guildinii</i> y <i>Nezara viridula</i> .	102
Figura 37.	Preferencia de led de colores según elección de <i>Nezara viridula</i> y <i>Piezodorus guildinii</i> .	103
Figura 38.	Trampas de colores instaladas en campos de soja según preferencia de las chinches. A y B) Trampa blanca y azul de la campaña 2015/16. C y D) Trampa blanca y azul de la campaña 2019/20.	105

observar la evolución en las capturas de insectos. En el detalle se

Figura 39.	Mapa satelital de la ubicación de los campos en donde se realizaron los ensayos.	111
Figura 40.	Mapa satelital de los lotes seleccionados (Lote 1 a la izquierda y Lote 2 a la derecha) con sus correspondientes parcelas y tratamientos dentro de cada una (P=paño vertical, T=trampa electrónica).	112
Figura 41.	Método de paño vertical para muestreo de Nezara viridula y Piezodorus guildinii.	113
Figura 42.	Trampa Prototipo 1 instalada en campos de soja (Lote 1).	114
Figura 43.	Trampa Prototipo 2 instalada en campo de soja (Lote 1).	115
Figura 44	Trampa Prototipo 3 instalada en campo de soja (Lote 2).	115
Figura 45.	Trampa Prototipo 4 instalada en campo de soja (Lote 2).	116
Figura 46.	Trampas Prototipo 5 instaladas en campos de soja (Lote 1). A) Trampa sostenida por el poste del alambrado. B) Trampa sostenida de varillas de PVC en medio del cultivo.	116
Figura 47.	Fotos recibidas de las trampas automáticas (Prototipo 5). A-D) Cebo de feromona con una captura de <i>Nezara viridula</i> y otros insectos; F) Cebo de feromona con una captura de <i>Nezara viridula</i> , <i>Piezodorus guildinii</i> y otros insectos; G) Captura de otros insectos.	120
Figura 48.	Comparación entre el número total de ejemplares de <i>Nezara</i> viridula y <i>Piezodorus guildinii</i> capturados con ambos métodos de monitoreo.	121
Figura 49.	Gráfico de dispersión de los insectos capturados para ambos métodos de monitoreo por campaña. Se observan las líneas de correlación positivas correspondientes a cada campaña.	121
Figura 50.	Individuos de <i>Hexacladia smithii</i> . A) Ejemplar macho. B) Ejemplar hembra.	131
Figura 51.	Ensayo de preferencia donde se observan los parasitoides y hospedadores (chinches).	131

Figura 52.	Número de individuos parasitoidizados y no parasitoidizados por especie de chinche.	133
Figura 53.	Porcentaje de parasitoidismo de <i>Hexacladia smithii</i> según la especie de chinche.	134
Figura 54.	Ejemplar de <i>Piezodorus guildinii</i> donde se observa cambio de coloración abdominal por parasitoidismo de <i>Hexacladia smithii</i> .	134
Figura 55.	A) Orificios de salida del himenóptero adulto. B) Disección de chinche donde se observan las pupas del parasitoide.	135
Figura 56.	Lepidópteros plaga. A) Adulto de <i>Cydia pomonella</i> (carpocapsa). B) Adulto de <i>Lobesia botrana</i> .	139
Figura 57.	Trampa Delta. A) Estructura de la trampa Delta. B) Interior de una trampa Delta con un cebo combinado ubicado en el piso adhesivo.	141
Figura 58.	A) Trampa Delta. B) Trampa electrónica Prototipo 4. C) Instalación de trampa Delta en árbol de manzana. D) Instalación de trampa electrónica en árbol de manzana.	142
Figura 59	Ubicación de las trampas en la Chacra 1.	143
Figura 60.	Ubicación de las trampas en los lotes seleccionados. A) Chacra 1. B) Chacra 2.	144
Figura 61.	A) Trampa electrónica Prototipo 5. B) Cambio de piso adhesivo de trampa electrónica instalada en árbol de manzana. C) Trampa electrónica instalada en Chacra 1. D) Trampa electrónica instalada en Chacra 2.	144
Figura 62.	A) Ubicación de los sitios de monitoreo en la estación de monitoreo de SENASA en Tunuyán, Mendoza. B) Detalle de la distribución de las trampas en cada sitio de monitoreo.	145
Figura 63.	A) Detalle de la estructura de la trampa electrónica similar a una tipo Delta. B) Trampa electrónica instalada en cultivo de vid. C) Trampa Delta en cultivo de vid.	146
Figura 64.	Capturas de carpocapsa en los dos tipos de trampas. A) Capturas en piso pegaioso de la trampa Delta. B) Captura (círculo roio) en	147

el piso de la trampa	electrónica.	C) Detecciones	visualizadas	en
una computadora don	de se observ	an los falsos pos	sitivos.	

Figura 65.	Capturas de carpocapsa en los dos tipos de trampas. A) Capturas en piso pegajoso de la trampa Delta. B) Capturas en superficie pegajosa de la trampa electrónica. C, D y E) Imágenes de las	148
	capturas (círculo rojo) tomadas por la cámara de las trampas electrónicas (Prototipo 5) en Chacra 1.	
Figura 66.	Capturas de carpocapsa en los dos tipos de trampas. A) Capturas en piso pegajoso de la trampa Delta. B, C y D) Imágenes de las capturas (círculo rojo) tomadas por la cámara de las trampas electrónicas (Prototipo 5) en Chacra 2.	150
Figura 67	Evolución en el diseño de los olfatómetros. A) Primer olfatómetro (2015). B) Segundo olfatómetro (2015). C) Tercer olfatómetro (2016). D) Cuarto olfatómetro (2017).	183

# Índice de Tablas

Tabla 1.	Principales especies fitófagas del cultivo de soja en Argentina.	33
Tabla 2.	Duración (días) de los estados biológicos de Nezara viridula	40
Tabla 3.	Duración (días) de los diferentes estados de desarrollo de <i>Piezodorus guildinii</i> .	44
Tabla 4.	Umbrales de Daño Económico de <i>Nezara viridula</i> y <i>Piezodorus</i> guildinii según estadio fenológico del cultivo de soja.	46
Tabla 5.	Componentes utilizados para la fabricación de los distintos prototipos de trampas y Bases.	67
Tabla 6.	Estructuras de las feromonas sexuales de <i>Nezara viridula</i> , <i>Piezodorus guildinii</i> y <i>Euschistus heros</i> .	88
Tabla 7.	Resultados de los compuestos presentes en las muestras analizadas.	98
Tabla 8.	Número de capturas totales de <i>Nezara viridula</i> y <i>Piezodorus</i> guildinii registradas en las campañas 2015/16 y 2019/20.	106
Tabla 9.	Número promedio de ejemplares (Media±DE) de <i>Nezara viridula</i> capturados por campaña con ambos métodos de monitoreo.	119
Tabla 10.	Número promedio de ejemplares (Media±DE) de <i>Piezodorus</i> guildinii capturados por campaña con ambos métodos de monitoreo.	119
Tabla 11.	Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de <i>Cydia pomonella</i> capturados durante el ensayo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 1.	148
Tabla 12.	Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de Cydia pomonella capturados en cada parcela con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 1.	149
Tabla 13.	Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de <i>Cydia pomonella</i> capturados a lo largo del ensayo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 2.	150

Tabla 14.	Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de Cydia pomonella capturados en cada parcela trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 2.	
Tabla 15.	Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de <i>Lobesia botrana</i> capturados en cada sitio de monitoreo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD).	151
Tabla 16.	Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de Lobesia botrana capturados en cada sitio de monitoreo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD)	152

## **Abreviaturas**

ANOVA Análisis de la Varianza

CITES Centro de Innovación Tecnológico Empresarial y Social S.A.

EtOH Etanol

°C Grados Celsius

GC/MS Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas

GPS Sistemas de Posicionamiento Global

GSM Sistema Global de Comunicaciones Móviles

GSM-SMS Sistemas de Comunicación Inalámbricas de Larga Distancia

ha Hectárea/s

hs Hora

IFIQC Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba

INTA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

IR Sensor Infrarrojo

MIP Manejo Integrado de Plagas

m Metro

Mpx Megapixeles

μl Microlitro

min Minuto

Nist Espectros de las Bibliotecas del programa NIST MS Search 2.0

PC Personal Computer

PM Peso Molecular

PVC Policloruro de Vinilo

RTC Real Time Clocks

SD Secure Digital

SENASA Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria

UDE Umbral de Daño Económico

USB Universal Serial Bus

## Resumen

La agricultura es de gran importancia para el crecimiento económico de una región. Sin embargo, este desarrollo puede verse perjudicado por los daños y las pérdidas económicas que ocasionan los artrópodos plaga en los cultivos. En la actualidad, se han desarrollado numerosos métodos para combatir estos organismos, tanto químicos como físicos, entre ellos, los plaguicidas, siendo una alternativa que proporciona grandes beneficios a la producción. No obstante, su uso inadecuado ha ocasionado serios perjuicios a los organismos benéficos y al medio ambiente, como así también a la salud humana.

En la Argentina, la soja (*Glycine max* L.) es la principal oleaginosa cultivada, la cual se ve afectada por un complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae), que genera millones de dólares en pérdidas y costos de control. Este complejo está representado por la "chinche verde", *Nezara viridula* (Linnaeus), la "chinche de la alfalfa", *Piezodorus guildinii* (Westwood), la "chinche de los cuernitos", *Dichelops furcatus* (Fabricius) y el "alquiche chico", *Edessa meditabunda* (Fabricius). Las dos primeras representan las especies más importantes en cuanto a presencia y pérdidas de rendimiento en esta leguminosa.

En el cultivo de soja, el monitoreo de estos insectos se realiza mediante recuentos visuales, utilizando el paño vertical, que es una herramienta útil para determinar los momentos en que las plagas llegan a los umbrales de daño económico y es necesario su control. Pese a ello, es de difícil aplicación debido a que requiere trabajo manual intensivo, generando una falta de datos en tiempo real para la toma de decisiones. Por lo tanto, es necesaria la implementación de un método de detección automático, que no requiera la inspección rutinaria y que a la vez brinde información más precisa, permitiendo tomar las medidas de control adecuadas.

Estos métodos están asociados a cebos de feromonas para la atracción de los insectos. En la Argentina, si bien se han implementado para algunas plagas de dípteros, lepidópteros y coleópteros, aún no se conocen para el complejo de hemípteros fitófagos. Por consiguiente, el objetivo de esta Tesis fue desarrollar trampas con feromonas y la inclusión de sensores

electrónicos en su interior a fin de obtener una alarma temprana de aparición de *Piezodorus* guildinii y *Nezara viridula* en campos de soja.

Los ensayos fueron llevados a cabo durante cuatro campañas agrícolas (2016-2020), en campos de soja ubicados en la localidad de Sunchales, Santa Fe. Para ello, se diseñaron y fabricaron en laboratorio cinco prototipos de trampas electrónicas. Su desarrollo se basó en la implementación de sensores infrarrojos para la detección de los insectos en los cuatro primeros prototipos y de la toma de imágenes para su identificación en el quinto. Cada prototipo desarrollado fue probado en lotes de soja, para corroborar su eficiencia en el monitoreo de chinches fitófagas. Los diseños fueron evolucionando a medida que se resolvieron problemas estructurales y de funcionamiento, optimizando su rendimiento y calidad en la detección y reconocimiento de las plagas. Además, se realizaron ensayos en laboratorio y a campo para determinar los atrayentes más adecuados para el seguimiento de estos insectos, utilizando cebos comerciales de feromona sexual de *Euschistus heros*, papeles y luces led con distintas longitudes de onda (colores).

A partir de los resultados obtenidos se pudo determinar la preferencia tanto de *N. viridula*, como de *P. guildinii* hacia el color azul y blanco, siendo una buena alternativa para su implementación en las trampas electrónicas. Sin embargo, las distintas pruebas realizadas tanto en laboratorio como a campo, demostraron que la feromona comercial utilizada no fue lo suficientemente eficiente para la atracción de las especies en estudio. Además, el diseño estructural de cada prototipo también influyó en el éxito de las capturas. Por su parte, mediante pruebas con el Prototipo 5 en cultivos de pera, manzana y vid para el monitoreo de polillas plaga, se pudo determinar el correcto funcionamiento de las trampas, en las que se utilizó un atrayente específico de cada insecto y un diseño adecuado. Esto nos permitió resaltar la importancia de contar con un buen atrayente y un diseño de trampa que permita el fácil ingreso de los insectos pero que imposibilite su escape para su detección.

Adicionalmente, se realizaron ensayos con parasitoides de la especie *Hexacladia smithii* (A.) (Hymenoptera: Encyrtidae) para determinar la preferencia de hospedador y su eficiencia como controlador biológico de *N. viridula*, *P. guildinii* y *E. meditabunda* y su posible integración con el monitoreo automatizado de estas plagas. Las pruebas de elección realizadas en el laboratorio mostraron que *H. smithii* tuvo una marcada preferencia sobre *N.* 

*viridula*, seguida por *P. guildinii*. Sin embargo, no se observó parasitoidismo en *E. meditabunda*. Estos resultados demostraron el potencial de *H. smithii* como controlador biológico de *N. viridula* y *P. guildinii* y su posible integración con el monitoreo automatizado de estos insectos, pudiendo resultar muy beneficioso para los Programas de Manejo Integrado de Plagas.

A partir de los resultados obtenidos de esta Tesis, nuestros esfuerzos estarán puestos en continuar trabajando e investigando, para lograr un monitoreo activo, en tiempo real, que reduzcan la mano de obra y generen información precisa para la toma de decisiones en el manejo de los insectos plaga.

Palabras claves: monitoreo automatizado, trampas, feromonas, atrayentes, chinches, soja, Hexacladia smithii, Tecnologías para el Manejo Integrado de Plagas

# **Abstract**

Agriculture has a great importance on the economic growth of a region. However, this development can be affected by the damage and economic losses caused by insect pests on crops. Nowadays, several methods have been developed to combat these arthropods. Numerous methods, both chemical and physical, have been developed to fight against these arthropods, including pesticides. Although pesticides provide great benefits to production, their inappropriate use caused serious damage to beneficial organisms and to the environment, as well as to human health.

In Argentina the soybean (*Glycine max* L.) is the main cultivated oilseed. This is affected by a group of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae), that generates millions of dollars in losses and control costs. This group consists of "chinche verde", *Nezara viridula* (Linnaeus), the "chinche de la alfalfa", *Piezodorus guildinii* (Westwood), the "chinche de los cuernitos", *Dichelops furcatus* (Fabricius), and the "alquiche chico", *Edessa meditabunda* (Fabricius). The first two are the most important species in terms of presence and yield losses of the soybean.

The monitoring of these insects in the soybean is done by visual counts, using the vertical beat sheet which is a useful tool to determine when plague reach the thresholds of economic damage and need to be controlled. Nevertheless, this is difficult to apply due to the intensive manual labour that requires, generating a lack of real-time data for decision making. Therefore, it is necessary to implement an automatic detection method which does not require routine inspection, and that at the same time provides more accurate information, allowing to take appropriate control measures.

These methods are associated with pheromone lures for insect attraction. In Argentina, although they have been implemented for some Diptera, Lepidoptera and Coleoptera pests, they have not been used for the phytophagous Hemiptera group, commonly known as stink bugs. Therefore, the objective of this Thesis was to develop traps with pheromones, including electronic sensors inside them to obtain an early warning of the appearance of *Piezodorus guildinii* and *Nezara viridula* in soybean fields.

The trials were carried out during four agricultural seasons (2016-2020), in soybean fields located in the city of Sunchales (Santa Fe). For these trials, five prototypes of electronic traps were designed and manufactured in the laboratory, implementing sensors for insect detection in the first four prototypes and image capture for their identification in the fifth one. Each prototype developed was tested in soybean fields to corroborate its efficiency in monitoring phytophagous stink bugs. The designs evolved as structural and operational problems were solved, optimizing their performance and quality in pest detection and recognition. Furthermore, laboratory and field tests were carried out to determine which is the most suitable way to attract those insects with the aim of monitoring them: on the trails commercial *Euschistus heros* sex pheromone lures, paper and LED lights with different wavelengths (colors) was used.

From the results obtained, it was possible to determine the preference of *N. viridula* and *P. guildinii* towards blue and white colour, being a good alternative for its implementation in electronic traps. However, the different tests carried out, both in the laboratory and in the fields, showed that the commercial pheromone used wasn't efficient enough to attract the species under study. In addition, the structural design of each prototype also had an influence on the success of the captures. Despite these results mentioned above, it's important to notice that, through tests with Prototype 5 in pear, apple and grapevine crops for monitoring pest moths, it was possible to determine the correct functioning of the traps, in which were used a specific attractant for each insect and an adequate design. This allowed us to validate the hypothesis of the importance of having the right thing to attract the insects, and a trap design that allows easy entry of the insects but prevents their escape for detection.

Additionally, trials were conducted with parasitoids of the species *Hexacladia smithii* (A.) (Hymenoptera: Encyrtidae) to determine the preference over a host, the efficiency as a biological controller of *N. viridula*, *P. guildinii and E. meditabunda*, and their possible integration with automated monitoring of these pests. Choice tests conducted in the laboratory showed that *H. smithii* had a clear preference over *N. viridula*, followed by *P. guildinii*. However, parasitoidism was not observed on *E. meditabunda*. These results demonstrated the potential of *H. smithii* as a biological controller of *N. viridula* and *P. guildinii*, and its possible integration with an automated monitoring system for these insects,

which could be very beneficial for Integrated Pest Management Programs.

Based on the results obtained from this Thesis, our efforts will be focused on continuing working and researching to achieve an active real time monitoring, that reduce working labour and generate accurate information for decision making in the management of insect pests.

**Key words:** automated monitoring, traps, pheromones, attractants, stink bug, soybean, Hexacladia smithii, Integrated Pest Management technologies.

# **CAPÍTULO 1**

# **Introducción General y Antecedentes**



TESIS DOCTORAL - LUCIANA BOLLATI

### INTRODUCCIÓN GENERAL Y ANTECEDENTES

#### 1. Antecedentes

#### 1.1. Problemática Actual

La agricultura juega un papel importante en el desarrollo económico de una región. Sin embargo, los insectos plaga pueden dificultar este crecimiento, disminuyendo la calidad y rendimientos de la producción, siendo los responsables de una pérdida anual de al menos 70 mil millones de dólares a nivel mundial. Su incidencia depende de los cultivos, zonas, campañas agrícolas, condiciones climáticas, sistemas de siembras, etc. Aunque en muchos casos las pérdidas que ocasionan son cuantiosas (entre el 35% y 42% de la producción), no sólo por el daño directo o indirecto que provocan en la producción, sino también por las medidas de control que son necesarias para mantener altos los rendimientos (Birch y Wheatley 2005; Zhong 2018; Conti et al. 2021).

Hoy en día, la agricultura moderna actúa como empresa tecnológica donde a partir de los recursos disponibles que existen en la naturaleza (agua, tierra, energía), combinan la ciencia y la ingeniería sofisticada para aumentar la productividad en los cultivos. Para la lucha contra estos insectos, se han desarrollado numerosos métodos, tanto químicos como físicos (láminas pegajosas, trampas, barreras, etc.). Dentro de los primeros se encuentran los plaguicidas, que han sido una alternativa para disminuir los daños ocasionados por insectos plaga, aumentando la productividad, con costos relativamente bajos para el productor (Wauchope 1978; Jiang et al. 2008). Estos productos son de una gran efectividad, y su uso en la protección del cultivo ha proporcionado grandes beneficios. Sin embargo, aún no se ha logrado tener información precisa, para que puedan actuar correctamente en el momento y lugar adecuado, generando un uso irracional de los mismos. Esto ha provocado perjuicios serios al cultivo y al medio ambiente, como así también a la salud humana (Jiang et al. 2008; Islam 2012; Zhong et al. 2018; Suárez et al. 2021).

El conocimiento de esta problemática, ha generado el interés por desarrollar sistemas de manejo de plagas, que faciliten la supresión selectiva, y que limiten o reduzcan el uso de plaguicidas. Dentro de ellos se encuentra el Manejo Integrado de Plagas (MIP), el cual se basa en la integración de diferentes herramientas como son el uso de variedades resistentes, el

empleo de enemigos naturales y barreras biológicas, la utilización de biopesticidas sintéticos y pesticidas químicos, entre otros. Además, está basado en el cálculo y observación de los umbrales de daño económico (UDE), que es el parámetro de la densidad poblacional de los insectos que permite tomar la decisión de usar o no una estrategia de control. Esto permite controlar de manera más sustentable y amigable con el medioambiente, los ataques por plagas (Montiel y Jones 1989; Ves Losada 2005: Zhong et al. 2018; Kuswantoro et al. 2020).

En la actualidad, en nuestro país, el monitoreo se realiza mediante recuentos visuales, que permiten llegar a determinar cuándo las plagas llegan a los UDE (Ves Losada 2005). El paño vertical es una herramienta útil para el seguimiento de estos artrópodos y permite identificar y cuantificar las especies (Gamundi 1995). Sin embargo, es de difícil aplicación debido a que requiere trabajo manual intensivo, en grandes extensiones, generando una falta de datos en tiempo real para tomar las decisiones pertinentes. Por lo tanto, es necesario la obtención de otros métodos, más simples, que aseguren la determinación de los niveles de daño y que justifiquen un control químico. Por esta razón, la existencia de un método de detección automático, que no requiera la inspección rutinaria y con información más precisa, resolvería algunos de los cuellos de botella que hoy tiene este sistema (Epsky y Shuman 2001; Tobin et al. 2009, Silva et al. 2011; Zhong et al. 2018). Un ejemplo de ello, es el desarrollado por Kliewe (1998) y Beerwinkle (2001), basado en trampas con cebos de feromonas con transductores de cruce, que realizan un conteo automático de los insectos capturados. Además, se ha documentado la implementación de sistemas de registro automático, utilizando cámaras que graban la periodicidad de las capturas de Chilo suppressalis Walker (Lepidoptera: Crambidae) y Spodoptera litura Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) (Kondo et al. 1994), y la transferencia automática a una computadora que realiza un conteo a partir de imágenes de *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellinae) (Shimoda et al. 2006). También, se ha utilizado esta tecnología basada en imágenes, para identificar y clasificar a diferentes especies de insectos (Landwehr y Agudelo-Silva, 2005; Wen et al. 2009). Otro ejemplo, es el realizado por Tobin et al. (2009), donde se utilizan trampas con feromonas, que a partir de un sensor registra la fecha y hora de la entrada en la trampa de los machos de Lymantria dispar Linnaeus (Lepidoptera: Lymantriidae) y el desarrollado por Silva (2011), donde se emplean trampas con sensores ópticos para la clasificación de insectos vectores de enfermedades, permitiendo la optimización del monitoreo.

Como se mencionó anteriormente, estos sistemas automatizados están integrados a trampas con atrayentes para la captura de los insectos plagas. Dentro de éstas, se encuentran las denominadas "trampas de feromonas", que contienen cebos con sustancias, o mezclas de sustancias químicas que imitan a las hormonas sexuales emitidas por un insecto y que producen una respuesta en organismos de la misma especie (Seybold y Donaldson 1998). Estos atrayentes, dentro del MIP, son probablemente los semioquímicos usados con mayor frecuencia, no solo por ser amigables con el ambiente, sino además, por su gran especificidad y su bajo costo (Weinzierl et al. 2005; Barrera et al. 2006).

En Argentina, si bien se han implementado para algunas plagas de dípteros, lepidópteros y coleópteros, aún no se conocen para el complejo de hemípteros fitófagos, conocidos vulgarmente como chinches, chicharritas, pulgones, etc., que constituyen un serio problema tanto para los cultivos intensivos, como extensivos. En otros países como Brasil, se han aislado y comenzado a comercializar cebos con feromonas de *Euschistus heros* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae) y *Thyanta perditor* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae), cuyos componentes atraen a las hembras de estas especies (Costa et al. 2000, Borges et al. 2011a; Laumann et al. 2011), pero aún no se dispone de feromonas de las demás especies de chinches.

Por este motivo, es preciso destacar la necesidad e importancia de aplicar técnicas de muestreo y prácticas eficientes de manejo para estos hemípteros (Gamundi y Sosa, 2007). El uso excesivo de pesticidas para su control, ha generado resistencias y resurgencias de las poblaciones de insectos plaga (Gamundi y Sosa 2007; Perotti et al. 2010; Kuswantoro et al. 2020). De este modo, el monitoreo eficiente y preciso, la utilización de UDE y el uso racional de los insecticidas de síntesis para el control de las chinches, adquieren gran importancia (Gamundi y Sosa 2007).

#### 1.2. Cultivos extensivos en la Argentina: La soja

Los principales cultivos extensivos en la Argentina son: el trigo, el maíz, el girasol y la soja, debido a la gran superficie productiva que representan, como así también, a los ingresos económicos que generan sus exportaciones. Siendo la Argentina uno de los países más productivos del mundo, y con sus mercados enfocados casi por completo a la exportación, es capaz de proveer alimentos a los países más vulnerables (Satorre 2005).

La soja (*Glycine max* L.) es el principal cultivo oleaginoso cultivado en la Argentina. Es una hierba anual, perteneciente a la familia de las leguminosas de 30 a 120 cm de altura (Troiani y Steibel 2008; Werdin González 2010). En su ciclo de vida presenta diferentes estadios fenológicos, que son importantes en el ámbito de la investigación y en el manejo agrícola. Estos estadios se basan en la escala propuesta por Fehr et al. (1971) la cual señala los estados de desarrollo de una planta de soja. Estos se dividen en dos categorías: vegetativos (V) y reproductivos (R). Los primeros son determinados por la cantidad de nudos por encima del tallo principal que tienen o han tenido hojas. Los segundos están basados en la floración y en el crecimiento de vainas y semillas (Santos, 2010).

Estadios Vegetativos: se cuenta desde abajo hacia arriba

VE: plántula emergida y cotiledones sobre la superficie.

**VC:** planta en estado cotiledonar.

V1: planta con su primera hoja unifoliada totalmente desarrollada.

V2, V3, Vn: planta con la primera, segunda, enésima hoja trifoliada totalmente desarrolladas.

#### **Estados Reproductivos**

R1: Comienzo de Floración: una flor abierta en algún nudo de la planta.

R2: Plena Floración: una flor abierta en uno de los nudos superiores del tallo principal.

R3: Comienzo de Fructificación: vainas de 5 mm de largo.

R4: Plena Fructificación: vainas de 2 cm de largo.

**R5:** Comienzo de llenado de granos: granos de 3 mm de largo.

**R6:** Tamaño máximo de granos: las vainas tienen semillas verdes que llenan completamente la cavidad del fruto.

**R7:** Comienzo de Madurez: alguna vaina con su color típico de madurez (marrón o gris según la variedad).

**R8:** Madurez Comercial: 95 % de vainas con el color típico de madurez.

La soja es uno de los cultivos más antiguos y constituye la fuente de aceite y proteína vegetal más importante del mundo (Maqueira-López et al, 2016). Representa casi el 93% de la producción nacional de granos, seguida del girasol con un 5,3%. Según de Sene Pinto y de Freitas Bueno (2019) "América Latina es responsable de más de la mitad de toda la soja plantada en el planeta, donde Brasil es el líder (con más de 35 millones de hectáreas), seguido de la Argentina y Paraguay"

Dentro del territorio argentino, las principales zonas productoras de soja son: Buenos Aires con el 29,90%, Córdoba con un 27,45%, Santa Fe con el 17,98%, representando entre las tres el 75,33% de la superficie sembrada del país (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina, 2022a) (Fig. 1). En los últimos años, la gran expansión del sistema agropecuario en el país ocasionó que la superficie destinada al cultivo de soja aumente considerablemente, posicionando a la Argentina como uno de los principales exportadores de este cultivo. Actualmente, la cadena de soja en el país, es considerada como una de las más competitivas por sus avances tecnológicos, productivos y en cuanto a la generación de divisas (Infante 2019; Paolilli et al. 2019; Ramírez 2019). Según Leguizamón (2014), la Argentina es vista como el "granero del mundo".

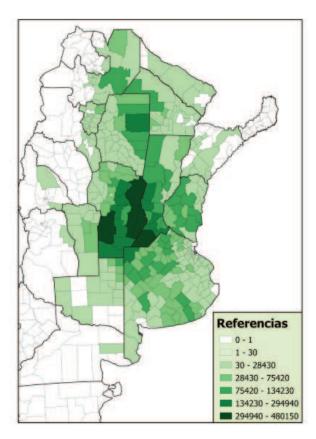


Figura 1. Distribución geográfica de la superficie (en ha) sembrada con soja por departamento en Argentina (2021-2022) (Fuente: tomado de SISA con base en Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina 2022a)

De acuerdo a lo señalado por Ramírez (2019) nuestro país, "es el principal exportador mundial de harinas y aceites de soja, y tercer vendedor global de granos de soja sin procesar". Según lo informado por Paolilli et al. (2019), el 67% de la producción argentina de aceite y el 91% de harina generadas, se exporta a distintos países del mundo.

Este autor reporta además, que el volumen de soja cosechado en promedio en los últimos 10 años es de 49 millones de toneladas. Con una superficie sembrada de casi 20 millones de hectáreas, en la campaña 2014/15, alcanzó una producción máxima de 61 millones de toneladas, llevándola a ocupar el primer lugar en cuanto producción de granos argentinos. Sin embargo, en la campaña 2017/18, a causa de las condiciones climáticas desfavorables, se produjo un descenso de la producción, dejándola en el segundo puesto. Asimismo, en la campaña 2020/2021 se observa una caída del 6,37% de la superficie sembrada respecto al año anterior (Fig. 2). Estos números reflejan la importancia económica,

social, política y territorial que la soja ha logrado adquirir en estos últimos años (SSPMicro con base en Ministerio de Hacienda de la Nación 2019; Giraudo 2019; Infante 2019; Paolilli et al. 2019; BCRmercados, 2021; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina, 2022a).

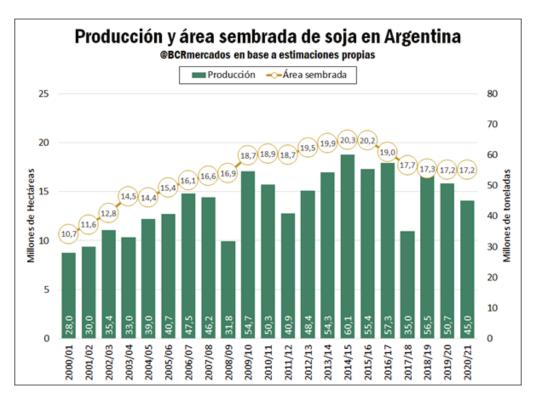


Figura 2. Evolución histórica de la producción y área sembrada de soja en Argentina (Fuente: tomado de BCRmercados-Informe Semanal 2021)

#### 1.3. Principales insectos plagas que afectan la soja

Según Vitti y Sosa (2008) "se considera a un organismo plaga [...] cuando la densidad de su población supera los niveles que son aceptables para el cultivo y provocan un daño que se traduce en pérdidas económicas para el productor". En la Argentina, la soja es el cultivo que sufre mayores ataques por insectos, luego del algodón. Son los principales factores que interfieren en la cadena productiva de esta oleaginosa, afectando la calidad de sus granos y aumentando los costos de producción. En nuestro país, se han registrado más de 40 especies fitófagas que se alimentan de los distintos órganos de este cultivo, siendo los lepidópteros defoliadores y los heterópteros chupadores los principales. Los daños físicos directos se

producen desde la siembra hasta la madurez, derivando en pérdidas en el rendimiento y la calidad del grano. Sin embargo, es importante resaltar que no todos los insectos considerados plagas ocasionan daños económicos significativos, como para realizar un control químico (Werdin González 2010; Lucarelli 2015; Giraudo 2019).

Varios autores dividen a las plagas en grupos de acuerdo al predominio en cada uno de los estadios fenológicos del cultivo de soja:

En la etapa o período vegetativo los principales insectos que dañan la soja son:

- Complejo de picudos
- Orugas barrenadoras
- Orugas cortadoras
- Orugas defoliadoras

En la etapa o período reproductivo las plagas presentes son:

- Picudo negro (*Rhyssomatus subtilis* Fiedler)
- Orugas defoliadoras
- Chinches
- Ácaros
- Trips

En la Tabla 1 se pueden observar las distintas especies de insectos plagas que afectan el cultivo de soja y la parte de la planta que resulta atacada:

Tabla 1. Principales especies fitófagas del cultivo de soja en Argentina.

Orden	Familia	Especie	Nombre vulgar	Parte de la planta atacada
Hemiptera	Pentatomidae	Nezara viridula	Chinche verde	Va, Se
		Piezodorus guildinii	Chinche de la alfalfa	Va, Se
		Edessa meditabunda	Alquiche chico	Va
		Dichelops furcatus	Chinche espinosa	Va
		Euchistus heros	Chinche marrón	Va, Se
		Thyanta perditor	Chinche	Va, Se
	Lygaeidae	Nysius simulans	Chinche de la semilla	Se, Pl
		Rachiplusia nu	Oruga medidora	Ho
		Chrysodeixis includens	Oruga medidora falsa	Но
		Anticarsia gemmatalis	Oruga de las leguminosas	Ho, Va
		Helicoverpa gelotopoeon	Oruga bolillera	Va, Br
		Helicoverpa armigera	Oruga cogollero	Ho, Ta, Va
	Noctuidae	Helicoverpa zea	Oruga del maíz	Ho, Va, Br, Ta
		Spodoptera frugiperda	Oruga militar tardía	Ho, Br, Ta
		Spodoptera cosmioides	Oruga militar grande	Va, Ho, Se
		Spodoptera eridania	Oruga militar del sur	Br, Ho
		Spodoptera albula	Gusano cortador	Ho, Ta
Lepidoptera		Agrotis ípsilon	Oruga grasienta	Pl
		Agrotis malefida	Oruga áspera	Pl
	Tortricidae	Epinotia aporema	Barrenador del brote	Br, Ho, Va
		Argyrotaenia sphaleropa	Oruguita enruladora	Br, Ho
		Crocidosema aporema	Barrenador del brote	Br, Ho, Va, Se
	Phycitidae	Elasmopalpus lignosellus	Barrenador del tallo	Ta
	Arctiidae	Spilosoma virginica	Gata peluda norteamericana	Br, Ho, Va
	Pieridae	Colias lesbia	Isoca de la alfalfa	Но
	Pyralidae	Achyra bifidalis	Oruguita verde de la verdolaga	Но, Та
Coleoptera	Chrysomelidae	Diabrotica speciosa	Vaquita de San Antonio	Br, Ho, Ra
	Melyridae	Astylus atromaculatus	Siete de oro	Pl, Se
	Elateridae	Conoderus sp	Gusano alambre	Se, Pl, Ra
		Naupactus xanthographus	Mulita del suelo	Br, Ho, Ra

	Curculionidae	Pantomorus viridisquamosus	Mulita del suelo	Br, Ho, Ra
		Promecops sp.	Gorgojo	Ho, Se
		Rhyssomatus subtilis	Picudo negro de la soja	Ho, Ta, Va, Se
		Sternechus subsignatus	Picudo del tallo de la soja	Pl, Br, Ta
	Scarabidae	Diloboderus abderus	Complejo de gusanos blancos	Pl, Ra, Ho
		Cyclocephala sp.		
		Bothynus striatelus		
		Lygirus burmeisteri		
		Lyogenis sp.		
Three on on town	Thripidae	Caliothrips phaseoli	Trips	Ho, Br
Thysanoptera		Frankliniella schultzei	Trips	Ho
	Gryllidae	Anurogryllus muticus	Grillo subterráneo	Ho, Pl
Orthoptera	Acrididae	Dichroplus sp.	Tucura	Ho, Pl
		Tropinotus sp.	Tucura	Ho, Pl
Hymenoptera	Formicidae	Acromyrmex lundi	Hormiga negra	Ho
		Acromyrmex striatus	Hormiga colorada	Ho
Diptera	Agromyzidae	Melanagromyza sojae	Mosca de la soja	Ho, Ta, Pl
Acarina	Tetrany chidae	Tetranychus urticae	Arañuela roja común	Но

Referencias: Pl: Plántulas; Ra: Raíces; Ta: Tallos; Br: Brote; Ho: Hoja; Va: Vaina; Se: Semillas. (Fuentes: Molina 2006, 2008, 2011; Massaro, 2008; Vitti Scarel y Sosa, 2008; Werdin González, 2010; Murúa et al. 2014, 2018; Vera et al. 2018, 2021; Socías, 2019)

Además, la soja presenta organismos benéficos, denominados comúnmente "enemigos naturales". Entre ellos se encuentran los depredadores, los parasitoides y microorganismos como hongos, virus y bacterias, que inciden principalmente sobre las larvas y pupas de lepidópteros y sobre huevos, ninfas y adultos de hemípteros. Los mismos actúan como controladores naturales de estos fitófagos, disminuyendo sus densidades poblacionales.

Entre los principales depredadores presentes en el cultivo de soja se pueden mencionar a las familias Chrysopidae (*Chrysopa* sp, *Chrysoperla externa* Hagen), Coccinelidae (*Coleomegilla quadrifasciata* Schöenherr, *Eriopis connexa* Germar, *Adalia bipunctata* Linnaeus, *Harmonia axyridis* Pallas), Reduviidae (*Diaditus semicolon* Stål, *Rasahus hamatus* Fabricius), Carabidae (*Calosoma argentinensis* Csiki., *Gallerita collaris* Dejean), Nabidae (*Nabis* sp.), Geocoridae (*Geocoris* sp.) y al orden Araneae.

Por su parte los parasitoides más comunes de esta leguminosa son los pertenecientes a las familias Encyrtidae (*Capidosoma floridanum* Ashmead, *Hexacladia* sp.), Scelionidae (*Trissolcus bassalis* Wollaston), Trichogrammatidae (*Trichogramma* sp.) y Tachinidae (*Trichogoda* sp.).

Además, existen hongos que controlan a estos insectos perjudiciales como ser Entomophthora sp., Erynia gammae (Weiser), Metarhizum anisopliae (Metschnikoff), Beauveria bassiana (Bals) Vuill. y Nomuraea rileyi (Farlow).

El conocimiento de las fluctuaciones poblacionales tanto de especies plagas como benéficos que existen en el cultivo de soja, es importante a la hora de tomar las decisiones para su manejo. Esto es debido, a que tanto depredadores, parasitoides y hongos, pueden mantener las poblaciones de insectos plagas por debajo de sus niveles de daño, siendo fundamental la conservación de estos organismos dentro del cultivo (Molina 2006, 2008, 2011; Schneider et al. 2009; Werdin González 2010; Rimoldi et al. 2012; Lucarelli 2015).

#### 1.4. Las especies bajo estudio y su incidencia en el cultivo de soja

Como se mencionó anteriormente, la soja es atacada principalmente por insectos del Orden Lepidoptera, representado por defoliadores y el Orden Hemiptera, siendo en su mayoría insectos chupadores de granos. El Orden Hemiptera, representa uno de los clados de mayor importancia económica por los insectos plagas que lo integran. Dentro del mismo, se encuentra el Suborden Heteroptera, el grupo con mayor diversidad de especies hemimetábolas (metamorfosis incompleta), en el cual se agrupan a las vulgarmente conocidas "chinches". Dentro de este suborden se encuentra la Familia Pentatomidae, siendo considerada la tercera familia más numerosa dentro del mismo, con más de 800 géneros y 4700 especies descritas (Werdin González 2010; Grazia et al. 2015; Bianchi et al. 2019).

Los insectos que integran este grupo, son considerados los artrópodos con mayor importancia económica en el período reproductivo de la soja en varias regiones de nuestro país (Molinari et al. 2015). Poseen un aparto bucal picador-suctor, a través del cual ocasionan daños directos al succionar savia e inyectar saliva tóxica, compuesta por agentes histolíticos que descomponen los tejidos para facilitar su ingestión y, además, como daño indirecto, son

vectores de numerosas enfermedades de los cultivos. Se alimentan de tallos, hojas, flores, vainas y semillas, teniendo preferencia sobre estas dos últimas. Los daños en las vainas se observan como manchas descoloridas o marrones y en el caso de las semillas, como manchas oscuras. El ataque de estos fitófagos puede ocasionar pérdidas en el contenido celular, aborto o deformación de granos y penetración de patógenos que producen podredumbre. Como defensa, los granos dañados generan mayor cantidad de proteínas, disminuyendo su contenido en aceites. A su vez, la madurez tardía, retención foliar, generación de folíolos pequeños y vainas numerosas pegadas al tallo, son signos de grandes focos de infestación (Gamundi, 2003; Link et al. 2006; Gamundi y Sosa 2007; Ribeiro et al. 2009; Werdin González 2010, Giacometti et al. 2020; Kuswantoro et al. 2020). Otros ataques pueden ser realizados por estos insectos en el estado vegetativo del cultivo, afectando los tallos y ocasionando que la planta se quiebre o se caiga. Todos estos daños generan la disminución en los rendimientos y calidad del cultivo, afectando la rentabilidad económica de los productores (Gamundi 2003; Link et al. 2006; Gamundi y Sosa 2007; Ribeiro et al. 2009; Werdin González 2010, Giacometti et al. 2020).

El comportamiento y las fluctuaciones poblacionales de estos insectos, está fuertemente relacionada con el crecimiento reproductivo del cultivo. Se observa un marcado aumento de las poblaciones desde finales de la etapa vegetativa y comienzos de la reproductiva, donde la planta empieza a producir sus vainas. Las chinches por lo general, colonizan el cultivo desde los bordes, en forma de manchones, hacia el centro a partir del comienzo de formación de vainas. Desde el estado fenológico R5, la distribución se vuelve más uniforme, hasta la madurez del cultivo (Gamundi y Sosa 2007; Werdin González 2010; Borges et al. 2011a; Flores et al. 2016; Fernández et al. 2018).

En la Argentina existe un complejo de chinches (Hemiptera: Pentatomidae) de gran importancia económica, porque generan millones de dólares en pérdidas y costos de control en frutas, vegetales, granos y cultivos extensivos, especialmente la soja. Este complejo está representado por la chinche verde, *Nezara viridula* (Linnaeus), la chinche de la alfalfa, *Piezodorus guildinii* (Westwood), la chinche de los cuernitos, *Dichelops furcatus* (Fabricius) y el alquiche chico, *Edessa meditabunda* (Fabricius). Las dos primeras representan las especies más importantes en cuanto a presencia y pérdidas de rendimiento en el cultivo de

soja. La "chinche verde", es un insecto polífago y constituye el pentatómido más importante como plaga de la soja en el mundo. Por otro lado, la "chinche de la alfalfa" o "de las leguminosas", se lo encuentra como plaga principalmente en leguminosas, afectando la calidad y viabilidad de las semillas (Aragón y Flores 2006; Gamundi y Sosa 2007; Gomez et al. 2013; Panizzi et al. 2000; Panizzi et al. 2002; Fernandez et al. 2018; Giraudo 2019; Tillman y Cottrel 2019; Kuswantoro et al. 2020).

En la década del 70′, el cultivo de soja en la Argentina aumentó considerablemente, expandiendo su frontera agrícola. Esto trajo consigo, cambios en los ecosistemas vegetales existentes, lo que generó mayor disponibilidad de alimentos para *N. viridula* y *P. guildinii*. Por su parte, en el 2012 se adopta en la Argentina la soja Bt (*Bacillus thuringiensis*), la cual ofrece una protección contra las principales especies de lepidópteros plaga, pero no sobre las chinches fotófagas. Esto pudo ser un factor que permitió mantener densidades poblacionales elevadas de estos insectos, convirtiéndose ambas especies, en plagas de gran importancia económica (Liljesthröm y Coviella 1999; Casmuz et al. 2021).

### 1.4.1. Nezara viridula

### 1.4.1.a) Características generales

Nezara viridula es vulgarmente conocida como "chinche verde común", es una especie de distribución mundial (cosmopolita), encontrándose principalmente en las regiones tropicales, subtropicales y cálidas de Europa, Oceanía, Asia, África y América (Coombs, 2004; Esquivel et al. 2018; Giraudo 2019). La misma fue descrita por Linneo en 1758 como Cimex viridulus y fue reportada en la Argentina en 1919 (Coombs 2004; Werdin González 2010). Es una especie polimórfica en cuanto a la coloración de su cuerpo, presentando nueve variedades distintas. Los tres morfotipos principales son: var. smaragdula Fabricius (cuerpo totalmente verde), var. torquata Fabricius (cuerpo verde con callosidades amarillentas en la parte anterior y posterior de la cabeza y los márgenes anteriores del pronoto) y var. aurantiaca Costa (cuerpo completamente amarillento-anaranjado o rosado) (Fig. 3) (Todd 1989; Coombs 2004; Werdin González 2010; Esquivel et al. 2018; SINAVIMO 2021a).







Figura 3. Morfotipos principales de *Nezara viridula* (adultos). A) var. smaragdula Fabricius. B) var. torquata Fabricius. C) var. aurantiaca Costa (Fuente: elaboración propia).

Es un insecto hemimetábolo, es decir en su ciclo de vida pasa por tres fases: huevo, ninfa y adulto. Los huevos son colocados por la hembra en masas de 50-100 huevos en forma hexagonal, generalmente en el envés de las hojas. Al inicio son de color amarillento y al pasar los días se oscurecen ligeramente, pudiéndose visualizar los ojos rojos de las ninfas en desarrollo a través del opérculo. Tienen un tamaño promedio de 1,25 mm de largo por 0,85 mm de diámetro y se encuentran firmemente unidos entre sí y pegados al sustrato (Todd 1989; Coombs 2004; Werdin González 2010; Esquivel et al. 2018; SINAVIMO 2021a).

En cuanto a las ninfas, las mismas atraviesan cinco estadios en los cuales a medida que van mudando, cambian de coloración y aumentan de tamaño. Las ninfas del primer estadio, recién emergidas, permanecen agregadas cerca del huevo y no se alimentan. Se cree que este comportamiento de agregación ocurre como forma de protección ante depredadores, frente a la desecación y para aumentar la sujeción al sustrato (Todd 1989; Werdin González 2011).

En los estadios ninfales II y III comienza a perderse el hábito de agregación y los insectos empiezan la búsqueda de alimento, lo que conlleva a una mayor mortalidad de individuos. Se movilizan dentro de la misma planta, a distancias cortas, para alcanzar mayormente las estructuras reproductivas (frutos y semillas) de donde adquieren los nutrientes principales y en menor medida a los órganos vegetativos.

Los estadios IV y V son los más importantes para lograr llegar a la fase adulta, ya que si en ellos obtienen un alimento de alta calidad podrán alcanzar un desarrollo reproductivo óptimo. A raíz de esta búsqueda de alimento, es que se observa elevada mortalidad de los individuos como en los estadios anteriores. En estos estados biológicos es cuando se inicia la verdadera dispersión de la especie (Todd 1989; Panizzi 2008; Werdin González 2011; SINAVIMO 2021a) (Fig. 4).

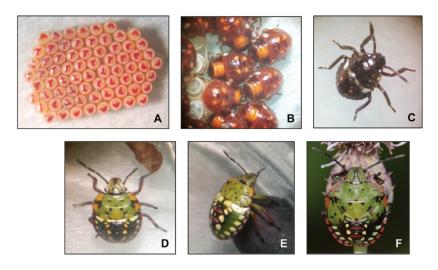


Figura 4. Huevos y estadios ninfales de Nezara viridula. A) Ovipostura hexagonal donde se observan las ninfas (rojo) en su interior. B) Ninfa Estadio I. C) Ninfa Estadio II. D) Ninfa Estadio III. E) Ninfa Estadio IV. F) Ninfa Estadio V (Fuente: elaboración propia e imagen Estadio V extraída de Pixabay)

Los adultos de *N. viridula* miden entre 12 mm a 15 mm de largo, presentan un ciclo de vida anual con cuatro o cinco generaciones, siendo la tercera generación la que migra al cultivo de soja (Panizzi et al. 2000; Medina et al. 2018; Giraudo 2019; SINAVIMO 2021a). La hembra muestra una madurez sexual más temprana (4 a 5 días después de la emergencia) respecto al macho (7 a 10 días después de la emergencia). Este en general es más pequeño y, existe dimorfismo sexual en sus genitalias, las hembras presentan un par de placas laterales y los machos una única placa denominada pigóforo (Azmy 1976; Panizzi et al. 2000; Werdin González 2011; Esquivel et al. 2018) (Fig. 5). Desde Abril a Mayo (otoño) la última generación de adultos comienza a abandonar el cultivo en búsqueda de lugares protegidos para invernar (diapausa invernal). A partir de Septiembre inician su actividad y vuelan para buscar alimento y para reproducirse. En el cortejo pre apareamiento, la hembra genera

señales sonoras a través de vibraciones producidas en el sustrato, mientras que el macho libera feromonas sexuales como respuesta a estas, para atraer a la hembra. Los machos comienzan a producir feromonas casi al mismo tiempo que alcanzan la madurez sexual (Panizzi et al. 2000; Werdin González 2010). Según lo reportado por Borges et al. (2011a) y Tillman et al. (2010), los principales componente identificados para esta especie fueron: trans-(Z)-epóxido-bisaboleno(trans-Z-EBA)((Z)-(1'S,3'R,4'S)(-)-2-(3',4'-epoxi-4'-metilcicloh exil)-6-metilhepta-2,5-dieno) y su isómero cis (cis-Z-epóxido bisaboleno). Estos compuestos juegan un papel fundamental en la comunicación a larga distancia, para localizar al sexo opuesto (Esquivel et al. 2018).



Figura 5. Diferencia morfológica según el sexo de *Nezara viridula*. Izquierda Macho. Derecha Hembra (Fuente: elaboración propia).

La Tabla 2 muestra el tiempo promedio en días de cada estado de desarrollo según los estudios realizados por Werdin González y Ferrero (2008):

Tabla 2. Duración (días) de los estados de desarrollo de Nezara viridula.

Estado	Total días
Huevo	6 – 7
Ninfa I	5 – 6
Ninfa II	7 – 8
Ninfa III	8 – 10
Ninfa VI	8 – 11
Ninfa V	13 – 16
Adulto	41 – 50
Total Huevo - Adulto	90 – 95

# 1.4.1.b) Forma de alimentación y característica de los daños en soja

Por su capacidad de adaptación a ambientes en continuo cambio y su actividad altamente polífaga, la chinche verde es una plaga que invade una gran cantidad de especies vegetales. Se han registrado más de 30 familias con más de 100 especies diferentes de plantas hospedadoras para este insecto. Entre ellas se pueden mencionar, cultivos de leguminosas, tomates, sorgo, girasol, tabaco, maíz, crucíferas, espinacas, uvas, cítricos, arroz, hierbas y ornamentales, siendo su alimento predilecto, la soja (Panizzi 2000; Werdin González 2011).

Este artrópodo vive y se desarrolla sobre la planta de soja, alimentándose principalmente de vainas y semillas inmaduras. La colonización hacia el cultivo comienza en forma de manchones desde el final del periodo vegetativo (Vn) y durante R1 y R2. Luego comienza la dispersión hacia otros sectores y hacia finales de R4 y principios de R5 es cuando la población alcanza su máxima densidad. Entre estos períodos es cuando el cultivo es más vulnerable al ataque de chinches, ya que las pérdidas de rinde y disminución en la cantidad y calidad de semillas son máximas. En otoño los individuos de esta especie cambian de hospedador principal, para alojarse en plantas que le sirvan de refugio en su diapausa invernal (Panizzi 2000, 2008; Werdin González y Ferrero 2008; Werdin González 2010; Ciceoi et al. 2017; Bianchi et al. 2019; Giacometti et al. 2020; Kuswantoro et al. 2020).

Estos insectos han ocasionado mundialmente la pérdida de miles de millones de euros por sus ataques a cultivos agrícolas. *Nezara viridula* tiene la particularidad de lacerar e inyectar saliva tóxica a las semillas en desarrollo. Los daños al cotiledón reducen la viabilidad de la planta, mientras que los ocasionados en el eje radícula-hipocótilo provocan abortos de las semillas, generando la disminución en los rendimientos de la producción. Cuando las semillas son dañadas comienzan a arrugarse, son más pequeñas, se deforman y se tornan más oscuras. Los ataques por chinche, son más notorios en los últimos estadios fenológicos de la soja (R7-R8) (Werdin González 2010; Giacometti et al. 2020).

Además, según lo publicado por Werdin González (2010), este insecto es el responsable de la transmisión de microorganismos patógenos como ser, por ejemplo, *Nematospora coryli* (Peglion), el cual origina manchas calcáreas en las semillas, provocando la disminución del vigor y la viabilidad.

## 1.4.2. Piezodorus guildinii

### 1.4.2.a) Características generales

Piezodorus guildinii, vulgarmente conocido como "chinche de la alfalfa" o "chinche de las leguminosas", presenta una distribución mundial, encontrándose en países como Estados Unidos, Cuba, Guatemala, Panamá, Paraguay, Brasil, Jamaica, Granada, Haití, Uruguay y la Argentina siendo generalmente plaga de soja en América del sur, África y algunos países de Oriente. Piezodorus guildinii posee preferencia por aquellas plantas de las familias de las leguminosas. En nuestro país, se ha reportado a esta especie presentando mayor predominio en cultivos de soja que N. viridula, principalmente en Santa Fe y Buenos Aires (Cingolani et al. 2014; Flores et al. 2016; Giraudo 2019).

Al igual que *N. viridula*, esta especie tiene un ciclo de vida que comprende el estado de huevo, cincos estadios ninfales y el adulto (Liljesthröm y Coviella 1999) (Fig. 6). Los huevos son depositados sobre hojas, flores y frutos de sus hospedadores, prefiriendo en soja oviponer sobre las vainas. Cada postura presenta entre 24 a 30 huevos en dos hileras paralelas, llegando a realizar hasta diez oviposiciones cada hembra (160 huevos en total) (Massoni y Frana 2006; Fernández et al. 2018; Giraudo 2019). Los huevos miden 0,8 mm de alto por 0,5 mm de diámetro y tienen forma de barril. Son de color gris oscuro con una banda central transversal blanquecina, con corion reticulado y pubescente (Ribeiro Gonnet 2007; Antúnez et al. 2018; SINAVIMO 2021b).

Las ninfas pasan por cinco estadios, en el primero son de color negro en la parte anterior del dorso y rojizas en la parte posterior, volviéndose más verdosas a medida que transcurren los distintos estados. En los estadios I y II, las ninfas no se alimentan y permanecen agrupadas sobre los huevos, comenzando a dispersarse a partir del segundo estadio. En el estadio ninfal III, comienzan a alimentarse de hojas, flores y frutos de la planta hospedadora. Las ninfas del cuarto y quinto estadio pueden generar daños severos al cultivo de soja, siendo los del último estadio similares a los provocados por los adultos (Ribeiro Gonnet 2007; Antúnez et al. 2018; SINAVIMO 2021b).

Los adultos de *P. guildinii*, miden hasta 1 cm de largo, son de color verde claro presentando una línea rojiza donde se insertan las alas (Vitti Scarel y Sosa, 2008; Antúnez et

al. 2018). Los sexos pueden diferenciarse por sus genitalias, las cuales presentan las mismas características que en *N. viridula* (Fig. 5). Según lo reportado por Ribeiro Gonnet (2007), el período reproductivo a 16°C, comienza 15 días después de la muda y se extiende por 19 semanas. La primera postura ocurre a los 20-27 días de haber alcanzado el estado adulto (Tabla 3).

Según Flores et al. (2016) en época invernal se puede encontrar a esta especie en las cortezas de los árboles, aunque tienen preferencia por cultivos de alfalfa, malezas invernales y debajo del rastrojo en el mismo sitio donde completó su ciclo de vida. Al llegar la primavera migra y se desarrolla su primera generación, principalmente en cultivos de alfalfa, tréboles, caupí y otras leguminosas. Es la primera especie que se observa en la soja en floración o en estadios más tempranos, posiblemente por su fácil adaptación para alimentarse de plantas con flores. En enero y febrero esta chinche predomina en cultivos de soja, causando daños importantes que disminuyen el número de semillas y el poder germinativo (Panizzi et al. 2000; Massoni y Frana 2007).

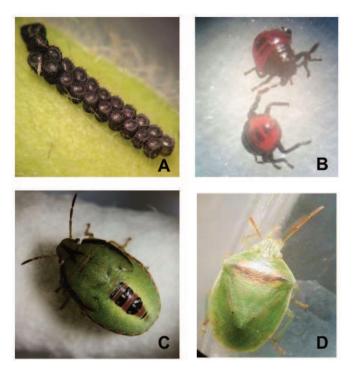


Figura 6. Huevos y estadios ninfales d*e Piezodorus guildinii*. A) Ovipostura en dos hileras paralelas. B) Ninfa Estadio I. C) Ninfa Estadio V. D) Adulto (Fuente: elaboración propia)

Tabla 3. Duración (días) de los diferentes estados de desarrollo de Piezodorus guildinii

Estado	Total días
Huevo	7
Ninfa	25 a 40
Adulto	50

(Fuente: elaboración propia con datos provenientes de Massoni y Frana (2005) y Giraudo (2019))

# 1.4.2.b) Forma de alimentación y característica de los daños en soja

En los últimos años, esta chinche ha adquirido la capacidad de adaptarse a los distintos ambientes y presentar alta tasa de invasión y establecimiento en el cultivo de soja. Es probable que esto fue debido a una mayor oferta de recursos disponibles por las siembras tempranas realizadas en septiembre y octubre y a la adopción de la tecnología Bt. Esto se suma, a las elevadas temperaturas registradas en los últimos años, que causan estrés térmico-hídrico en los cultivos, incrementando las poblaciones de esta especie. A pesar de su pequeño tamaño y menor peso, como así también la menor capacidad reproductiva, es la especie de pentatómidos que genera los daños más severos en la soja. Esto es debido a que son más agresivas y son menos susceptibles a los insecticidas (Massoni y Frana 2006; Cingolani et al. 2014; Flores et al. 2016; Giraudo 2019; Casmuz et al. 2021).

Las ninfas y adultos de *P. guildinii* alcanzan su máximo potencial cuando se alimentan succionando las vainas de los estadios fenológicos R5 y R6, lo que ocasiona su caída o daños en la semilla. Cuando los granos son dañados, se observan arrugados o manchados. Si no hay vainas disponibles, los ataques son producidos a brotes y ramas jóvenes. Estos insectos pueden transmitir además, enfermedades y causar retención foliar (Vitti Scarel y Sosa 2008; Giraudo 2019).

# 1.4.3. Control de pentatómidos plaga en el cultivo de soja con énfasis en las especies en estudio.

En la actualidad, las chinches son controladas con insecticidas no selectivos, pertenecientes al grupo de los organofosforados (monocrotofós, metamidofós, endosulfán) y

piretroides (cipermetrina). El uso excesivo de estos pesticidas, ha generado resistencias y resurgencias de las poblaciones de estos insectos plaga (Gamundi y Sosa 2007; Perotti et al. 2010).

El conocimiento de las relaciones que existen entre el número de insectos plaga y la pérdida de producción es de suma importancia para implementar Programas de Manejo Integrado de Plagas. Stern et al. (1959) definió varios conceptos claves para la toma de decisiones para el control de estos artrópodos, entre ellos:

- **Nivel de Daño Económico (NDE):** la densidad poblacional mínima que puede causar Daño Económico (DE)
- Daño Económico (DE): la cantidad de perjuicio que justificaría el costo del control
- **Umbral de Daño Económico (UDE):** la densidad poblacional con la cual deben iniciarse medidas de control para evitar que se alcance el NDE

Dentro de las estrategias de control de los pentatómidos basadas en el MIP, se pueden mencionar: el monitoreo del cultivo desde sus primeras etapas reproductivas, la toma de decisiones teniendo en cuenta el UDE para el control eficiente de la plaga, la aplicación de insecticidas selectivos, la utilización de trampas bordes y el control biológico por conservación. El empleo de un método de muestreo y monitoreo de las chinches en los cultivos de soja, es de suma importancia principalmente en las etapas tempranas del desarrollo reproductivo de la planta, ya que en ese periodo suele superarse el UDE. Además, cuando el monitoreo se realiza en forma ineficiente y con la frecuencia inadecuada, puede implicar pérdidas económicas muy grandes. Por lo tanto, es notable la necesidad y la importancia de aplicar técnicas de muestreo y prácticas eficientes de manejo para estos hemípteros (Gamundi y Sosa 2007).

El alto nivel de daño generado por estas dos especies de chinches y las pérdidas económicas producidas por disminución en la calidad de la producción, determinan que los UDE en el cultivo de soja sean muy bajos (Iannone 2005; Ribeiro Gonnet 2007) (Tabla 4).

Tabla 4. Umbrales de Daño Económico de *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii* según estadio fenológico del cultivo de soja.

		Número de individuos/metro lineal de surco										
Estadio	Fo		-R4 n de vai	nas	For	R maci ón	5 i de gra	nos	D		-R7 del grai	10
Espaciamiento (cm)	70	52	42	35	70	52	42	35	70	52	42	35
N. viridula	0,8-1	0,7	0,6	0,5	2	1,5	1,2	1	5	3-4	2,8	2,5
P. guildinii	0,6	0,4-0,5	0,3-0,4	0,3	1	0,7	0,6	0,5	3	2	1,7	1,5

(Fuente: elaboración propia con datos provenientes Iannone (2012))

Por consiguiente, para poder determinar los UDE de cada especie y realizar los controles adecuados, es importante tener en cuenta varios factores: la especie, el estado de desarrollo del insecto y el estado fisiológico de la planta, el tamaño del cultivo al momento del ataque, el órgano de la planta que resulta afectado, la variedad del cultivo, presencia de enemigos naturales, factores climáticos (temperatura, fotoperíodo, etc), prácticas de manejo, entre otros (Gamundi y Sosa 2007; Vivas y Notz 2010).

Dentro del MIP es importante el empleo de trampas bordes las cuales se utilizan para atraer a los insectos plaga con el fin de evitar que colonicen el cultivo y a su vez concentrarlos en un sitio para su control químico. Es decir, se buscan especies vegetales por las que el insecto tenga cierta preferencia, mayor que por el cultivo a proteger, actuando, como su nombre lo indica, como trampas. Este método es económico y no afecta al medioambiente ni a los organismos benéficos (Werdin González 2011).

Uno de los pilares fundamentales del MIP además de definir apropiadamente los UDE, es el método de muestreo y monitoreo que se emplea para las chinches en soja. Este punto es muy importante teniendo en cuenta el modo de dispersión y colonización que tienen estos insectos sobre el cultivo. En la Argentina, los muestreos se realizan mediante diferentes métodos: paño horizontal, paño vertical y red de arrastre. Sin embargo, en los estudios realizados por Gamundi (1995) se demostró que el paño vertical era la técnica más recomendada por su eficiencia y precisión para el muestreo de este tipo de fitófagos. Como los daños de las chinches son significativos a bajas densidades, es fundamental realizar

muestreos que den una estimación adecuada del estatus poblacional de cada especie. Por ello, es recomendable hacer al menos 1 muestreo cada 3 ha tomando como base 10 muestreos iniciales independientemente de la superficie (Gamundi y Sosa 2007; Flores et al. 2016).

Según lo documentado por Flores et al. (2016) las densidades poblacionales de *N. viridula* y *P. guildinii* aumentan naturalmente a partir de R5, debido a la calidad del alimento que estimula y aumenta las oviposiciones. Además, este autor menciona que a bajas densidades quizá el daño no sea significativo en términos de pérdida de rendimiento, pero sí en lo que refiere a la calidad de grano (aceite o proteína) o semilla (vigor, carga fúngica, etc.). Por su parte, estudios realizados en INTA Oliveros, demostraron que a partir del umbral de 1,4 chinches/m² aumenta de manera significativa la incidencia de bacteriosis y hongos como *Phomopsis, Fusarium* sp y *Alternaria* sp.

Hoy en día, existe un manejo inadecuado en el control de plagas debido al anhelo de maximizar los rendimientos de la producción. Esto genera aplicaciones de insecticidas preventivos o la administración de pulverizaciones adicionales, para evitar la posible infestación de plagas o aprovechar la aplicación conjunta de algún herbicida o fungicida. Todo esto provoca que no se respeten los UDE, ocasionando grandes desequilibrios en el ecosistema agrícola de difícil remediación (Gamundi y Sosa 2007).

Por consiguiente, los daños generados por *N. viridula* y *P. guildinii* al cultivo de soja toman relevancia a la hora de decidir cómo actuar ante estos fitófagos. Sus daños ocasionan grandes pérdidas económicas a nivel mundial, por lo tanto es imprescindible disponer de métodos de muestreo que permitan relacionar la situación real del campo, con los valores poblacionales de la plaga y los daños ocasionados (Massaro 2008).

### 1.5. Métodos de monitoreo de plagas actuales

### 1.5.1. Métodos convencionales: Ventajas y desventajas de su uso

En la actualidad, se espera contar con un sistema de detección, monitoreo y/o control de insectos plagas, que sea específico, eficiente, económico y de fácil empleo en el campo, del cual se obtenga información confiable y precisa sobre las características de la población de

interés. Sin embargo, esto depende de varios factores como: el diseño de la trampa, la calidad y eficiencia del atrayente que se emplea, los factores ambientales, el estado fenológico del cultivo, el tipo de insecto que se desea capturar y la eficiencia de los recursos humanos que se designan para la toma de datos y procesamiento de la información.

### > Atrayentes

En la actualidad los atrayentes son fundamentales en los Programas de MIP, donde junto con las trampas constituyen una de las herramientas más utilizadas para el control, monitoreo y seguimiento de poblaciones insectiles de importancia económica. Éstos median en la conducta de los insectos, siendo de distintos tipos dependiendo su origen y naturaleza. Por un lado, se encuentran los atrayentes visuales, los cuales pueden ser: (1) luces (incandescentes, fluorescentes o ultravioletas), que se encuentran en un entorno oscuro o con poca luz y que atraen principalmente a insectos nocturnos o crepusculares, o (2) objetos de colores que son atractivos debido a su reflectancia específica. Ambos tipos de atrayentes, son útiles ya que permiten obtener información sobre el comportamiento, la abundancia y composición de especies presentes en el cultivo. Sin embargo, si bien son económicos y de fácil aplicación, no son específicos y por lo general sirven principalmente para artrópodos voladores (Weinzierl et al. 2005).

Por otro lado, se encuentran los atrayentes alimenticios, los cuales desprenden olores de alimentos que atraen a los insectos, como frutas maduras y trituradas, extractos de plantas, harinas de pescado. Sin embargo, no son lo suficientemente específicos, son de corta duración y su radio de acción es bajo, volviéndose ineficientes y costosos (Cervera-López 2010).

Los atrayentes de feromonas, dentro del manejo integrado de plagas, son probablemente los semioquímicos usados con mayor frecuencia. Se basan en sustancias, o mezclas de sustancias químicas que imitan a las emitidas por un insecto y que produce una respuesta en organismos de la misma especie (Seybold y Donaldson 1998). Las feromonas son de distintos tipos, y según Shorey (1976), pueden clasificarse en: feromonas de agregación, de dispersión, de reconocimiento, y sexuales. Las ventajas que tienen además de ser amigables con el ambiente, es que son específicas y su costo es relativamente bajo. Sin

embargo, su durabilidad es reducida y hay que tener en cuenta las concentraciones que se emplean, ya que puede influir en la eficiencia de las capturas (Weinzierl et al. 2005; Barrera et al. 2006).

### > Trampas

El empleo de trampas para la detección y monitoreo de plagas ha sido exitoso para la toma de decisiones en su control. El diseño de la trampa depende del tipo de insecto que se desea capturar y del fin con el cual se va a utilizar la trampa, si es para control, monitoreo o detección. Son numerosos los tipos de trampas que se utilizan en la actualidad, entre ellos se puede mencionar: las de luz para insectos voladores nocturnos; las de succión para insectos pequeños y delicados; las pegajosas de colores, para insectos que son atraídos por ellos y las que presentan cebos con algún tipo de atrayente, principalmente sexuales (ej: feromonas). Dentro de las formas más comunes se encuentran las tipo Delta, las cilíndricas, las planas, las funnel, las tipo cono, etc. dependiendo del tipo de artrópodo objetivo. Lo importante del diseño de las trampas es que debe ser de fácil uso, barato y efectivo. Además, hay que tener en cuenta el tipo de insecto que se desea capturar o monitorear, para establecer el diseño más adecuado de trampa. Otro punto importante, es la colocación de las mismas a la altura y en el sitio correcto del campo (borde o centro), que son claves para la detección o interpretación de las capturas. Las más comunes y utilizadas en MIP son las cebadas con atrayentes, los cuales fueron mencionados anteriormente (Weinzierl et al. 2005; Barrera et al. 2006).

#### > Paño vertical

El método más utilizado y eficiente para el monitoreo de plagas en cultivos extensivos, es el "paño vertical". El mismo consiste en un tubo de PVC cortado a la mitad, de 8 cm de diámetro y 1 m de largo aproximadamente, en donde se le adosa un paño plástico blanco de 1 m de ancho por 86 cm de alto. El paño se coloca en el surco del cultivo, dejando el tubo colector sobre el suelo con la abertura hacia arriba, en la base de la planta y se la golpea contra él vigorosamente. En el tubo de PVC caen los insectos que luego serán cuantificados e identificados. Estudios previos han demostrado que esta técnica fue la más efectiva en cuanto al número de insectos capturados principalmente en cultivos extensivos, lo que permite tener mayor confiabilidad en el conteo y a la hora de tomar decisiones para su control. Es utilizado

principalmente para insectos caminadores como hemípteros, larvas de lepidópteros, coleópteros, entre otros (Saluso et al. 2007; Gamundi y Sosa 2007; Ribeiro et al. 2009).

Todas estas técnicas convencionales de monitoreo tienen las desventajas que requieren de mano de obra intensiva, es un trabajo laborioso y costoso y los datos registrados no son en tiempo real. Esto ocasiona que no se pueda tener un registro preciso de la dinámica poblacional de la plaga, lo que lleva a tomar decisiones inadecuadas a la hora de su control (Weinzierl et al. 2005; Cervera-López 2010; López et al. 2012).

# 1.5.1.1. Manejo Integrado de Plagas (MIP)

Según la FAO, "El Manejo Integrado de Plagas (MIP) es una metodología que emplea todos los procedimientos aceptables desde el punto de vista económico, ecológico y toxicológico para mantener las poblaciones de organismos nocivos por debajo del umbral económico, aprovechando, en la mayor medida posible, los factores naturales que limitan la propagación de dichos organismos". De acuerdo a esta definición, su objetivo principal es utilizar la menor cantidad de plaguicidas posible y priorizar la prevención y los tratamientos no químicos (Navarro Montes 2010), basándose fundamentalmente en el método de muestreo y monitoreo eficiente de la plaga (Gamundi y Sosa 2007). Sin embargo, estas prácticas deben ser incrementadas en los próximos años, ya que a causa de la falta de asesoramiento técnico o la toma de decisiones inadecuadas, aumentan las pérdidas y daños en los cultivos. Además, la determinación de aplicar plaguicidas ante la mínima presencia de plagas o de forma preventiva, atenta contra la fauna benéfica y a su vez, puede generar resistencia y resurgencia de los artrópodos y otros organismos perjudiciales (Epsky y Shuman 2001; Massaro 2008; Tobin et al. 2009, Silva et al. 2011).

### 1.5.1.1.a) Control Biológico

Uno de los pilares esenciales en los que se basa el MIP es el Control Biológico. Éste fue definido por Cervera-López (2010) como "el empleo de organismos vivos o de sus

productos para impedir, controlar o reducir las pérdidas o daños ocasionados por organismos nocivos".

Como se mencionó anteriormente en este capítulo, estos organismos benéficos se encuentran naturalmente regulando a las poblaciones de insectos plagas, siendo el control biológico el método amigable con el ambiente con el que se logra reducir los daños en la producción. Dentro de ellos se encuentran los microorganismos patógenos, parásitos, predadores y parasitoides. Este último grupo es uno de los más empleados como agentes de control biológico. Por tal motivo, si bien en la Argentina están comenzando a implementarse, en los últimos años se le ha dado mayor relevancia a las crías masivas en laboratorio (biofábricas), para luego realizar liberaciones a campo. Esto ayuda a los enemigos naturales que se encuentran presentes en el cultivo a cumplir su papel como biocontroladores. Sin embargo, en los últimos años los cambios en las prácticas agrícolas empleadas en el manejo de los cultivos afectaron considerablemente a estos agentes (Johnson 2000; Molina 2008, 2009, 2011; Werdin González 2010; Lucarelli 2015).

Si bien se han realizado investigaciones sobre un gran número de parasitoides de chinches que inciden sobre sus poblaciones en diferentes estados de desarrollo, existen otras especies que han sido poco estudiadas y documentadas. Debido a la importancia que presentan los parasitoides como agentes de control biológico, en esta tesis se quiso contribuir con el conocimiento de una especie poco estudiada en nuestro país, como es el caso de *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) (Capítulo 5).

# 1.5.2. Métodos automatizados: Ventajas y desventajas de su uso

Como se mencionó anteriormente, las técnicas de monitoreo tradicionales que necesitan mano de obra para la recolección de los datos, ya no son suficientemente eficaces para el manejo correcto y eficiente de los insectos. Por consiguiente, un sistema automatizado que permita obtener información más precisa, en tiempo real, permitirá conocer mejor la dinámica y crecimiento poblacional de la plaga. De este modo, se podrán tomar las medidas pertinente para su correcto control y tratamiento (Epsky y Shuman 2001; Tobin et al. 2009, Silva et al. 2011).

En la actualidad, el avance de la tecnología de microfabricación, ha permitido el desarrollo de sistemas electrónicos con pequeños sensores, que permiten obtener información muy precisa que no requieren la inspección rutinaria y en tiempo real. Cuando esta tecnología de sensores se integra junto con un dispositivo para capturar a los insectos, se constituye un sistema automatizado de monitoreo de plagas sumamente eficiente y con una gran capacidad de procesamiento de la información. Además, se reduce el costo de mano de obra, no sólo porque no se necesita de inspección, sino que en muchos de los casos es reemplazada por sistema de comunicación inalámbrica, donde la información es directamente recibida en una computadora o teléfono celular. Esta tecnología que permite disponer de datos en tiempo real y con información precisa del estado de los insectos en el cultivo, permite entender mejor la variación entre áreas del cultivo, aumentado la eficiencia y precisión en la toma de decisiones para el manejo eficiente de la plaga. De esta forma, es posible reducir el número de aplicaciones de insecticidas y como consecuencia, disminuir los costos de producción y los daños al medio ambiente y a la fauna benéfica (Schouest y Miller 1994; Jiang et al. 2008).

La mayoría de estos sistemas automatizados están integrados a trampas con cebos que atraen y capturan a los insectos. Dentro de éstas, se encuentran las denominadas "trampas de feromonas", en las cuales se utilizan principalmente feromonas sexuales para la atracción de los insectos de interés (Shorey 1976; Seybold y Donaldson 1998). El monitoreo basado en trampas de feromonas automatizado existe desde hace varios años, y su funcionamiento y aplicaciones varía en todo el mundo:

### > Trampas con feromonas y sensores infrarrojos

Un ejemplo de estas tecnologías es la desarrollada por Kim et al. (2011) donde utiliza una trampa con feromona sexual de *Grapholita molesta* Busck (Lepidoptera: Tortricidae), que tiene instalado un sensor infrarrojo que genera una señal eléctrica cuando el macho de esta polilla ingresa a la trampa. Esta señal se analiza en un procesador central y luego es transferida a un sitio de la web donde la información de las capturas diarias de cada trampa queda archivada. Otra tecnología similar es la descrita por Schouest y Miller (1994), en la que un sistema automatizado permite el procesamiento de la actividad del gusano rosado de la cápsula (*Pectinophora gossypiella* Saunders (Lepidoptera: Gelechiidae)) y las variables

ambientales que inciden sobre el mismo. Este sistema basado en telemetría infrarroja, permite transferir la información entre dos estaciones de campo remotas y una estación base equipada con una computadora. Del mismo modo, las trampas desarrolladas por Jiang (2008) y Okuyama et al. (2011), basado en la tecnología de comunicación inalámbrica, notifica automáticamente las condiciones ambientales y los insectos que ingresan en las trampas con feromonas para la mosca de la fruta, en tiempo real.

Por otra parte, las trampas automatizadas por Potamitis et al. (2014) están basadas en un sensor optoelectrónico que registra automáticamente los insectos que vuelan dentro de la trampa. Estos sensores son una serie de fototransistores que reciben luz de un LED infrarrojo. La grabación del ritmo del ala, se basa en la interrupción de la luz emitida, debido a la oclusión parcial que producen las alas del insecto. En estas tecnologías, la información que se registra es enviada en forma de un mensaje de texto corto a través del Global Wireless Mobile Communication System (GSM). Otra tecnología similar es la proporcionada por Kliewe (1998) y Beerwinkle (2001), en las que se emplea un sistema que utiliza un detector de bloqueo de luz infrarroja junto con un mecanismo de asistencia de captura de presión de aire, una válvula de conteo de insectos unidireccional y un registrador de eventos autónomo para registrar el momento preciso de la entrada del insecto a la trampa. La información que proporciona es útil para relacionar el comportamiento observado por la atracción de la trampa de feromonas con diversos factores físicos y ambientales, y así poder tomar las medidas de control pertinentes. De este modo, el uso de estas trampas automatizadas, que incorporan información meteorológica, presentan un gran valor para predecir tiempos óptimos de aplicación de insecticidas para el control de las plagas y, lo que es más importante, evitar aplicaciones innecesarias de pesticidas. Tobin (2009) utiliza trampas automatizadas de feromonas provistas de un sensor de grabación y un registrador de datos que informa la fecha y hora de entrada de los machos de la polilla *Lymantria dispar* Linnaeus (Lepidoptera: Lymantriidae) cuando ingresan en la trampa.

# > Trampas con feromonas y sensores que registran imágenes

A partir de tecnologías que utilizan cámaras fotográficas o sistemas que registran imágenes de los insectos plagas, se pueden monitorear y controlar sus poblaciones de manera

más fácil y eficiente. Un ejemplo de ello es el desarrollo de trampas para lepidópteros, que mediante feromonas como atrayentes y una cámara digital, se hace un recuento de los insectos que están presentes en el cultivo. Esta tecnología está controlada por medio de un temporizador de un ordenador, que toma automáticamente las imágenes de las plagas atrapadas. Las imágenes obtenidas, se transfieren a un servidor y por medio de un sistema inalámbrico se obtiene la información necesaria para su posterior tratamiento y control (Kondo et al. 1994; Shimoda et al. 2006). Los sistemas más comunes que utilizan el procesamiento de imágenes junto con feromonas como atrayentes, se basan en un dispositivo que captura las imágenes y una red de sensores inalámbricos que es capaz de adquirir y transmitir automáticamente imágenes del área de captura a una estación central. Esta misma estación proporcionará finalmente, una interfaz al operador para mostrar en tiempo real el mapa de población y su tendencia, así como una alarma cuando el número de insectos sobrepasa el umbral (Guarnieri et al. 2011; Tirelli et al. 2011; López et al. 2012; Priya et al. 2013; Miranda et al. 2014; Selby et al. 2014; Thangalakshmi y Ramanujan 2015).

Otro método un poco más avanzado, es el desarrollado por Wen et al. (2009). Se trata de un sistema basado en el procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones de ciertos insectos provenientes de huertos. Estos patrones se basan en las características globales y locales de los insectos. Las primeras proporcionan descripciones directas y compactas de los insectos, que suelen estar relacionados con información de su geometría, morfología y color. Las características locales brindan sólo información de interés local y carecen de información espacial y otras descripciones del objeto completo para la imagen. La combinación de ambas, genera la información necesaria para la clasificación de cada insecto capturado.

Actualmente, se encuentran en el mercado algunas empresas que ya cuentan con servicios de monitoreo automatizado de plagas. Entre ellas se puede mencionar a Trapview (<a href="http://www.trapview.com/v2/en/">http://www.trapview.com/v2/en/</a>) que a partir de sensores registran la entrada del insecto a la trampa y envían la información a un software que la procesa y posteriormente manda un alerta a través de una aplicación móvil (App). Por otro lado, se encuentra Semios (<a href="http://semios.com/es/">http://semios.com/es/</a>) la cual posee trampas con cámaras que toman fotografías en alta resolución, que luego son enviadas a una plataforma, donde son analizadas y los resultados

pueden visualizarse desde la web o a través de dispositivos móviles. Otra empresa importante a nivel mundial es Spensa Tech (https://spensatech.com), la cual cuenta con dos tipos de trampas automatizadas: una con cámaras que registran la foto de los insectos capturados similar a la antes mencionada, y la otra, mediante bioimpedancia, donde a través de unas varillas, se genera una corriente electrónica y mediante el análisis de las interrupciones generadas por los insectos que entran en contacto con el dispositivo, puede determinar las especies que fueron capturadas. Otras empresas que comercializan trampas automatizadas son las siguientes: Neltume (https://neltu.me/), Taranis (http://www.taranis.ag/), Chibis (https://www.clustersanjuantec.com.ar/).

Por otro lado, existen varias tecnologías de monitoreo automatizadas que han sido patentadas por sus creadores, para proteger su alto grado de invención, innovación y desarrollo. Gran parte de estos métodos automatizados están desarrollados en China, como es el caso de la patente desarrollada por Deyi et al. (2013). Esta invención se basa en un dispositivo de conteo fotosensible que registra la cantidad de insectos que son atrapados. El mismo comprende un sensor para la detección de los insectos, el cual está conectado con una pantalla y que permite la visualización y cuantificación de las capturas que se van produciendo dentro de la trampa. Una tecnología similar es la desarrollada en la patente de Meixiang et al. (2014), la que combina la tecnología mediante sensores infrarrojos y la toma de imágenes, para el conteo de insectos en tiempo real.

La patente desarrollada por Degui et al. (2010), presenta una tecnología más simple que las anteriores, comprendiendo un sistema de conteo automático de los insectos que ingresan a la trampa, mediante un detector infrarrojo. Este último, está conectado a un sistema de previsión automático, el cual consta de un dispositivo de transmisión inalámbrico, un receptor inalámbrico y un sistema de procesamiento de datos en red. Otros ejemplos procedentes del mismo país, son la patente de Jiancheng et al. (2013) y la de Wei et al. (2017) con tecnologías similares a las antes mencionadas. Las cuales utilizan haces de sensores infrarrojos para contabilizar los insectos que ingresan a la trampa, atraídos mediante atrayentes sexuales.

Inventores de Francia han desarrollado tecnologías de monitoreo y control de plagas mediante el conteo de los insectos y transmisión automática de la información en tiempo real,

bajo la patente de Holguin et al. (2012) y la de Cohen et al. (2014). También se puede mencionar a países como Korea y EEUU, donde sus desarrollos tecnológicos para el monitoreo y control de plagas siguen la misma línea que en las demás partes del mundo mencionadas. Algunos ejemplos de ello son: las patentes de Jung et al. (2009 y 2010), la de Chyun (2011) y la patente desarrollada por Coler y Mafra-Neto (2004).

# 1.5.2.1. Ventajas y desventajas de las nuevas tecnologías para el monitoreo y control de plagas

Si bien las tecnologías automáticas con feromonas no pueden ser utilizadas como indicador directo de la presencia de larvas en el cultivo que se encuentran produciendo daño, ya que sólo detectan adultos, proporcionan una herramienta invaluable, que aumenta la precisión en los monitoreos, reduce el trabajo intensivo de mano de obra y ayuda a correlacionar los umbrales de acción para las distintas plagas. Sin embargo, las trampas con sensores que sólo cuantifican al insecto presentan algunas limitaciones, como ser el sobreconteo de ejemplares que fueron capturados y no son de interés. Además, se debe tener en cuenta el diseño y estructura de la trampa, ya que es de gran importancia para que el insecto pueda pasar por el área de detección y de esta forma ser contabilizado de forma eficiente. Estos inconvenientes se han solucionado con la incorporación de tecnologías que toman imágenes en forma automática. Éstas tienen varias ventajas, ya que se puede identificar a los ejemplares capturados, mediante la imagen que se obtiene de alta calidad. De esta manera, los registros son más precisos y se pueden diferenciar de otros insectos que han sido capturados y que están presentes en el cultivo o que no son de nuestro interés (López et al. 2012; Mankin 2012).

# 2. Hipótesis

- A. El monitoreo automatizado de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula* a través de trampas electrónicas con feromonas, es un método más práctico y preciso que las técnicas convencionales existentes.
- B. El uso de biocontroladores como alternativa al control químico de chinches fitófagas en soja, es un método eficiente y sustentable, que en el futuro podría integrarse a los monitoreos automatizados.

## 3. Objetivos

### 3.1. Objetivo General

Diseñar, desarrollar y testear trampas con feromonas y la inclusión de sensores electrónicos en su interior, que permitan obtener una alarma temprana de aparición de *Piezodorus* guildinii y *Nezara viridula* en campos de soja.

### 3.2. Objetivos Específicos

- A. Diseñar y desarrollar prototipos en laboratorio de trampas electrónicas que reporten la presencia de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridul*a.
- B. Aislar e identificar feromonas de *N. viridula* en laboratorio, para optimizar la aplicación de las trampas sobre esta especie y comparar su eficiencia con la feromona comercial de *Euschistus heros*.
- C. Determinar la preferencia de colores de *N. viridula* y *P. guildinii* como atrayente alternativo y su implementación en las trampas de monitoreo.
- D. Poner a prueba las trampas electrónicas con feromonas desarrolladas para chinches, en campos con cultivos de soja de la región.
- E. Comparar la captura de chinches mediante trampas electrónicas con feromonas con la realizada a través de métodos de monitoreo convencionales.

- F. Desarrollar, en base a los datos recolectados, un plan de acción que analice el potencial de la tecnología y su escalado.
- G. Evaluar la eficiencia en el uso del parasitoide *Hexacladia smithii* como controlador biológico de las principales especies de chinches en soja, como futura integración con el monitoreo automatizado de estos insectos.

# **CAPÍTULO 2**

Desarrollo de trampas electrónicas para el monitoreo automatizado de insectos plaga



TESIS DOCTORAL - LUCIANA BOLLATI

# DESARROLLO DE TRAMPAS ELECTRÓNICAS PARA EL MONITOREO AUTOMATIZADO DE INSECTOS PLAGA

#### 1. Resumen

Se presenta el diseño y fabricación en laboratorio de cinco prototipos de trampas electrónicas, con el objetivo de reportar la presencia de chinches fitófagas (Hemiptera: Pentatomidae) de forma automatizada. Este sistema permitirá reducir los costos de mano de obra destinados al monitoreo, además, de proporcionar datos sobre sus poblaciones en tiempo real. El desarrollo de los mismos se basa en la implementación de sensores infrarrojos (IR) para la detección de los insectos en los cuatro primeros prototipos y de la toma de imágenes para su identificación en el quinto. Los diseños fueron evolucionando a medida que se fueron resolviendo problemas estructurales y de funcionamiento, optimizando su rendimiento y calidad en la detección y reconocimiento de los insectos capturados. Cada prototipo desarrollado fue probado en lotes de soja, para corroborar su eficiencia en el monitoreo de chinches fitófagas y continuar con el diseño y fabricación del siguiente.

### 2. Introducción

La importancia económica que generan los daños causados por las chinches (Hemiptera: Pentatomidae) en el cultivo de soja y la marcada necesidad de desarrollar soluciones integradas para el manejo de estos insectos, han motivado a los investigadores a buscar métodos para reducir el uso de plaguicidas y hacer un control más eficiente de estas plagas (Borges et al. 2011a). El monitoreo de insectos adultos con trampas es un método tradicional en los programas de MIP para el seguimiento de muchas especies de plagas. Los datos que se recopilan son de suma importancia para los productores agrícolas, ya que les permite conocer las fluctuaciones poblacionales de los insectos dentro de su campo y así poder tomar las decisiones pertinentes para su control (Sciarretta y Calabrese 2019). A su vez, los programas de MIP se basan en proporcionar información de cuándo, dónde y cuánto plaguicida debe aplicarse. Por lo tanto, un monitoreo constante y confiable le permite al productor conocer cuándo es el momento más apropiado para controlar a estos fitófagos,

evitando realizar aplicaciones innecesarias, generando gastos económicos y dañando al medioambiente (Holguins et al. 2010).

Como se mencionó en el Capítulo 1 de esta Tesis, los avances tecnológicos han llevado a la agricultura a otro nivel. El uso de herramientas digitales permite incrementar cada vez más la productividad, optimizando el manejo de los recursos e insumos agrícolas. Actualmente, el almacenamiento de datos y las plataformas digitales, permiten mejorar el proceso en la toma de decisiones. La combinación de sensores y dispositivos para capturar insectos plagas, junto a una gran capacidad de almacenamiento, permiten recopilar datos en tiempo real. Además, la integración con sistemas de comunicación inalámbricas de larga distancia (GSM-SMS) o sistemas de posicionamiento global (GPS), posibilita la automatización de los procesos, aumentando la precisión del manejo del cultivo y generando alertas de presencia de plagas con mayor eficiencia (Jiang et al. 2008; Sciarretta y Calabrese 2019; Lima et al. 2020; Suárez et al. 2021).

Por lo tanto, creemos que es necesario profundizar sobre estas tecnologías automatizadas para la detección y conteo de insectos plagas, que permitan eliminar los monitoreo manuales laboriosos, lentos, cuantiosos e imprecisos. Por consiguiente, nuestro objetivo fue desarrollar prototipos en laboratorio de trampas electrónicas que reporten la presencia de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula*.

#### 3. Resumen del Sistema

El diseño y fabricación de las trampas electrónicas fueron llevados a cabo en el Centro de Innovación Tecnológico Empresarial y Social (CITES S.A) principal incubadora de Argentina del Grupo Sancor Seguros, ubicada en la ciudad de Sunchales, Santa Fe. Se diseñó un prototipo diferente para cada campaña, basados en el trabajo publicado por Borges y Aldrich (1994), los que fueron modificados y mejorados en base a la electrónica empleada y a los problemas detectados durante su utilización. El desarrollo de las placas electrónicas para cada prototipo de trampa estuvo a cargo de un técnico electrónico, las que luego fueron replicadas por la autora de este trabajo para los respectivos ensayos.

En la campaña 2015/16 se fabricó un prototipo de trampa sin electrónica, que presentó las mismas características que se describen a continuación para el Prototipo 1 (campaña 2016/17). Este fue desarrollado para realizar ensayos previos a las pruebas de funcionamiento, las que se detallarán en el Capítulo 3. En los siguientes años, se fabricaron cinco prototipos diferentes con ocho trampas electrónicas cada uno por campaña (2016-2020). En las tres primeras temporadas (2016/17, 2017/18 y 2018/19), se instalaron sensores electrónicos para el conteo de insectos. Estos se basaron en la utilización de haces infrarrojos que detectan los movimientos de animales pequeños cuando pasan a través del haz de luz (Prototipo 1, 2, 3 y 4). Para la campaña 2019/20, se optó por la implementación de módulos electrónicos con cámaras para tomar imágenes que permitieron, además de contabilizar, poder identificar a los insectos (Prototipo 5).

Las trampas contaron con baterías para el funcionamiento de la electrónica y a su vez, una Base de comunicación. En el caso de los tres primeros prototipos, la Base almacenó internamente los datos recibidos y luego, se descargaron a una computadora (PC) por medio de un puerto USB (Universal Serial Bus). El siguiente prototipo, ya fue capaz de enviarlos a un servidor en la nube (internet); y en el Prototipo 5, el mismo módulo electrónico tenía la capacidad de transmitir la información al servidor, por lo que no fue necesaria una Base.

Cada prototipo desarrollado fue probado en laboratorio para corroborar su correcto funcionamiento y luego, instalado a campo para verificar su eficiencia en las capturas de insectos (ensayos que serán descritos en el Capítulo 4). En base a los resultados obtenidos y problemas detectados durante su utilización, se diseñó y fabricó el siguiente prototipo. Como se mencionó en el Capítulo 1, a estas trampas se les incorporó feromonas sexuales que permiten la atracción de los insectos hacia su interior. En este caso, se utilizaron feromonas comerciales de *Euschistus heros*, elaborados por la Empresa ChemTica Internacional S.A. (Costa Rica). Los ensayos realizados con estos atrayentes serán mencionados en el Capítulo 3 de la presente Tesis.

### 3.1. Evolución en el diseño estructural de las trampas electrónicas

En la campaña 2016/17 se diseñaron y fabricaron dos prototipos diferentes de trampas (Prototipo 1 y 2):

El **Prototipo 1** consistió en un recipiente cilíndrico de polipropileno blanco o azul en donde se recolectaron los insectos. A este, se le anexó en su abertura un embudo plástico con cuatro orificios perpendiculares en el margen superior, para facilitar la entrada de los insectos e impedir que se escapen. En la parte inferior se instalaron sensores electrónicos para registrar el ingreso de los insectos. Además, se colocó una tapa plástica para evitar la entrada de agua en la trampa y en la que se instaló un soporte para colocar el cebo con feromona. La base interna del recipiente se cubrió de aceite para que las chinches queden atrapadas y no escapen (Fig. 7). La electrónica junto con su batería, se colocaron dentro del recipiente colector, para evitar que queden expuestos y puedan dañarse.

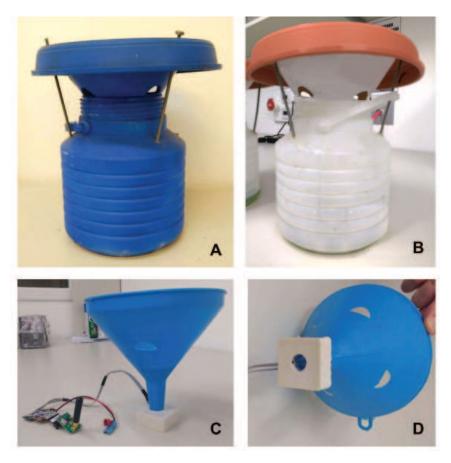


Figura 7. Prototipo de trampa 1. A y B) Trampas con sus diferentes colores. C y D) Detalle de los sensores ubicados en la parte inferior del embudo colector (Fuente: elaboración propia).

Para el **Prototipo 2** se fabricó un recipiente rectangular de plástico corrugado blanco (colector) y en su abertura se le anexó un embudo del mismo material para facilitar la entrada de los insectos e impedir el escape. En la parte inferior, se instalaron sensores electrónicos con la finalidad de registrar los insectos que ingresan. En la parte superior del recipiente se colocó una carcasa con dos aberturas opuestas para la entrada de los insectos y en donde se ubicó el cebo con feromona sexual (Fig. 8). La electrónica fue instalada dentro de una caja de plástico en la parte superior de la carcasa y la batería dentro del recipiente colector (Fig. 8B).

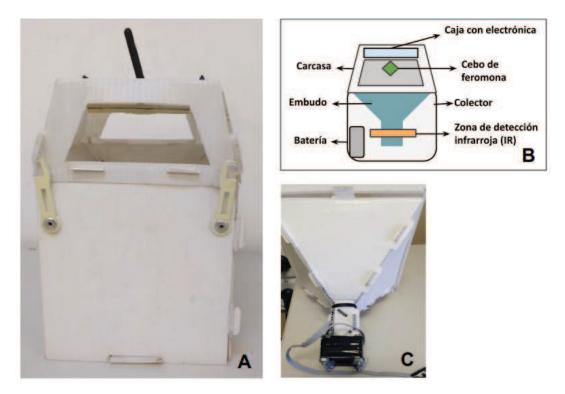


Figura 8. Prototipo de trampa 2. A) Trampa. B) Detalle de los diferentes componentes y secciones de la trampa. C) Detalle de los sensores ubicados en la parte inferior del embudo colector (Fuente: elaboración propia).

El **Prototipo 3** (campaña 2017/18) presentó las mismas características estructurales que el anterior, pero se le anexaron paneles solares para mantener las baterías cargadas. Los mismos fueron instalados en un soporte de plástico blanco de alto impacto fabricado a medida. La electrónica se colocó en una caja estanca (Tabla 5.t) junto con el panel solar, que permitió proteger aún más el sistema y facilitar su fabricación (Fig. 9).



Figura 9. Prototipo de trampa 3 con su respectivo panel solar y la electrónica colocada en una caja estanca junto al panel (Fuente: elaboración propia).

Para el **Prototipo 4** (campaña 2018/19) la estructura de la trampa fue la misma que la utilizada en el Prototipo 3, al que se le incorporó un dispositivo eléctrico que permitió el paso forzado de los insectos por los sensores para su detección. El mismo fue fabricado con varillas de metal, dispuestas verticalmente en la parte superior de la trampa y a las cuales se les suministró una carga de alto voltaje para neutralizar a los insectos que ingresaban a la trampa (Fig. 10).

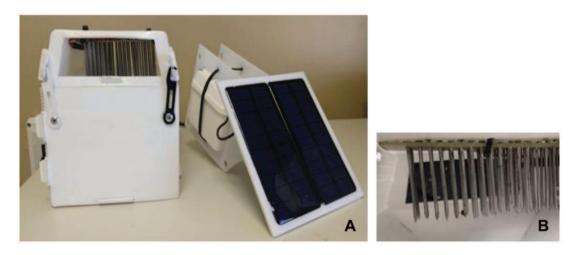


Figura 10. Prototipo de trampa 4. A) Trampa con su respectivo panel solar. B) Detalle del dispositivo eléctrico (Fuente: elaboración propia).

Por último, para el **Prototipo 5** (campaña 2019/20) se desarrolló un nuevo diseño de trampa, que consistió en una estructura semejante a una trampa tipo Delta de plástico corrugado, con dos aberturas opuestas, una para la entrada de los insectos y la otra para la correcta difusión de la feromona. En la base se colocó el atrayente sexual y una lámina pegajosa (elaborada por Orbi Et Al S.R.L., Mendoza, Argentina) para que los insectos que ingresen queden adheridos, evitando que escapen (Fig. 11.C).

En este caso, el registro de los insectos se realizó a través de la toma de imágenes mediante un módulo provisto de una cámara. Para ello, la electrónica fue colocada en una caja estanca (Tabla 5.t), en el techo de la trampa, con un orificio en el centro en donde se ubicó la cámara para tomar las fotos de la superficie pegajosa. Además, se unió la trampa con el panel solar mediante un tubo PVC para proteger los cables y a su vez, para que actuara de soporte (Fig. 11).

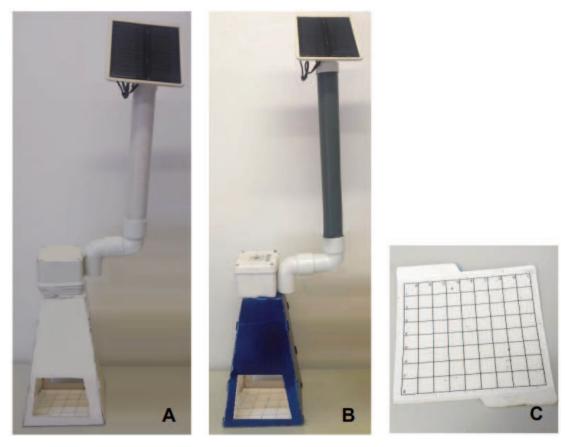


Figura 11. Prototipo de trampa 5. A) Trampa de color blanco con su respectivo panel solar. B) Trampa de color azul con su respectivo panel solar. C) Lámina pegajosa para la adherencia de los insectos (Fuente: elaboración propia).

# 3.2. Descripción del sistema electrónico

# 3.2.1. Componentes utilizados para la fabricación de las trampas

En la Tabla 5 se presentan y describen los distintos componentes utilizados para la fabricación de las trampas electrónicas y sus correspondientes Bases receptoras.

Tabla 5. Componentes utilizados para la fabricación de los distintos prototipos de trampas y Bases (Fuente: elaboración propia).

Nombre	Aplicación	Imagen
a) Sensores Infrarrojos (IR)	El led fotodiodo (blanco) emite una luz infrarroja y el fototransistor (negro) permite captar la luz emitida y la convierte en corriente eléctrica. Se utiliza para la detección de posición/presencia de un objeto.	
b) Módulo NRF905	Módulo de comunicación inalámbrico. Es el encargado de recibir y transmitir la información desde la trampa a la Base.	
c) Microcontrolador Arduino Micro	Es el responsable de guardar la información generada por las trampas y que luego es enviada.	
d) Microcontrolador Arduino Mega 2560	Es el responsable de guardar la información generada por las trampas.	09

e) Módulo FC-33 IR	Sensor de proximidad basado en infrarrojos IR. El mismo cuenta con un transmisor que emite energía de infrarrojos IR y un receptor que detecta la energía IR reflejada por la presencia de cualquier obstáculo. Esto permite regular la precisión de la detección de los insectos.	
f) Módulo Regulador de tensión Lm1117	Permite que el voltaje no entre demasiado bajo o demasiado alto al sistema.	
g) Fuente Step-down LM2596	Es una fuente para alimentar el circuito electrónico y permite regular los voltajes de salida dentro de los rangos que necesita la Base.	
h) Módulo lector de memoria Micro SD	Es un dispositivo que permite emplear una tarjeta SD para el almacenamiento de datos. Tiene una gran capacidad de almacenamiento, lo que permite guardar toda la información proveniente de las trampas.	
i) Cargador Micro USB Arduino Nubbeo	Se utiliza para cargar las baterías de Litio (Li-ion) a través de los paneles solares.	

j) Módulo Step-up MT3608	Puede entregar un voltaje de salida regulado y constante superior al voltaje de entrada, sin importar las variaciones del voltaje de entrada o de carga. Lo que permite regular la salida de carga de la batería a 5V, que se utilizan para alimentar el circuito electrónico.	BOTTO TO SERVICE OF THE PARTY O
k) Chip de comunicación inalámbrica NRF24L01	Se utilizó para aumentar la distancia y frecuencia de comunicación entre las trampas y la Base.	THE TOTAL POST OF THE PARTY OF
l) Microcontrolador Arduino pro mini	Es responsable de guardar la información proveniente de cada trampa y puede almacenar una gran cantidad de datos como ser fecha, hora, cantidad de insectos sensados, etc.	Juning and the second s
m) Circuito electrico "mata moscas"	El circuito se compone de un oscilador electrónico, un transformador y un multiplicador de alta tensión. Esto permite matar o atontar al insecto que ingresa a la trampa.	
n) Reloj DS3231 (Real Time Clocks)	Es un reloj que permite obtener mediciones de tiempo en las unidades temporales que empleamos de forma cotidiana (segundos, minutos, horas, días, semanas, meses y años). Este fue empleado para determinar la hora de	

	envío de información de la Base al servidor.	
o) Módulo A6	Es un módulo GSM capaz de gestionar tanto mensajes como llamadas de teléfono. Se utiliza para enviar y recibir los datos generados por las trampas a un teléfono móvil o una computadora.	General Form
p) Módulo A6C	Permite tomar imágenes de la superficie pegajosa de las trampas y a su vez, enviarlas a un servidor en la nube.  Mediante una tarjeta SIM de telefonía móvil, puede enviar la información vía GSM/GPRS.	
q) Capacitores	Permite nivelar el voltaje necesario para encender y apagar la cámara del Módulo A6C.	Mar 160 F
r) Resistencias	Permiten regular los niveles de los distintos voltajes del sistema.	-0110
s) Ficha ON-OFF	Llave palanca ON-OFF para el encendido y apagado tanto de las trampas como de la Base.	The state of the s
t) Caja estanca	Caja utilizada para colocar la electrónica correspondiente a cada trampa y a la Base. Se utilizaron distintas medidas	

	dependiendo su fin (16x12x6,7cm para la Base y 8x8x7cm para las trampas).	
u) Panel solar	Utilizado para cargar las baterías a través de la luz solar.	
v) Batería de gel	Utilizada en las trampas y Base del Prototipo 1 y en la Base del Prototipo 2, para energizar al circuito electrónico.	The control of the co
w) Batería Li-ion	Utilizada como reemplazo de las baterías de gel, para energizar al circuito electrónico tanto de trampas como de Bases.	

# 3.2.2. Evolución en el desarrollo electrónico: De la detección a la identificación por imágenes

# Prototipo 1 y 2 basado en sensores infrarrojos (IR) (campaña 2016/17):

La electrónica para ambos prototipos consistió en la utilización de cuatro sensores IR (Tabla 5.a): dos fototransistores y dos diodos led infrarrojos, montados en forma de cruz en la parte inferior del embudo. De este modo, la trampa captura y registra, mediante un microcontrolador (Tabla 5.c), los cambios de estado de los sensores infrarrojos que conforman la barrera de paso de los insectos. El microcontrolador tiene como función retener la información registrada y luego de un período de tiempo determinado, transmitirla a la Base por medio del módulo transmisor/receptor (Tabla 5.b) (Fig. 12).

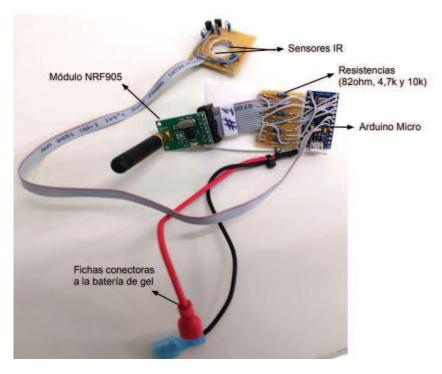


Figura 12. Detalle de la electrónica para cada trampa del Prototipo 1 y 2 (Fuente: elaboración propia).

La Base de comunicación fue implementada sobre un microcontrolador de desarrollo (Tabla 5.d), el cual tenía incorporado una memoria interna para el almacenamiento de la información proveniente de las trampas, para luego ser descargada a una PC a través de un puerto USB. Además, se utilizó un módulo transmisor/receptor (Tabla 5.b) para permitir la comunicación desde la Base a las trampas (Fg. 13). Se trabajó a una frecuencia de banda de 433 Mhz para evitar interferencias con los sistemas GSM (Sistema Global de Comunicaciones Móviles). Para su instalación a campo fue colocada en un recipiente plástico cerrado herméticamente (Fig. 14).

Tanto las trampas como la Base fueron energizadas a través de baterías recargables de gel de 6V y 4 Amp (Tabla 5.v). Se utilizaron tres baterías para la Base y una para cada trampa.

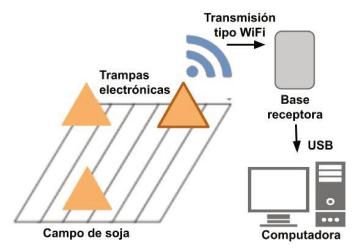


Figura 13 Modelo de comunicación entre las trampas y la Base de los Prototipos 1 y 2 y la obtención de la información (Fuente: elaboración propia).

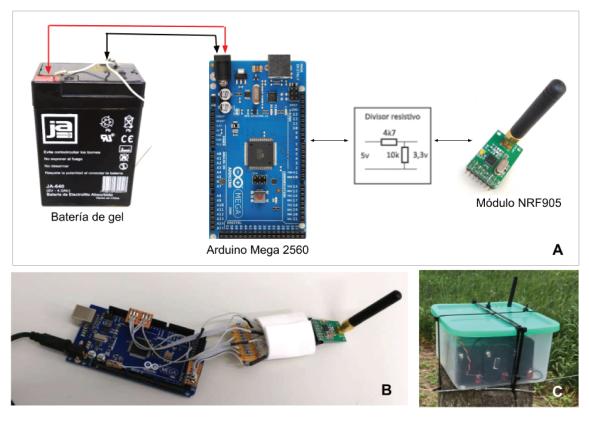


Figura 14. Electrónica correspondiente a la Base del Prototipo 1 y 2. A) Detalle del diseño de la placa electrónica. B) Placa electrónica. C) Base en recipiente plástico en campo de soja (Fuente: elaboración propia).

## Prototipo 3 basado en sensores infrarrojos (IR) (campaña 2017/18):

Se rediseñó la trampa con un nuevo sistema electrónico que permitió tener mejor precisión en la detección de los insectos y un aumento en el alcance de la señal entre las trampas y la Base. Además, se reemplazaron las baterías de gel tanto de las trampas como de la Base por baterías de litio (Li-ion), ya que tienen mayor durabilidad y son más amigables con el ambiente (Tabla 5.w).

Para aumentar la precisión en la detección de los insectos se incorporó un módulo IR (Tabla 5.e) el cual a través de leds infrarrojos y fototransistores regula la precisión de la detección. Se agregó a la electrónica un regulador de carga Micro USB (Tabla 5.i) que utiliza la conexión de 5V para cargar la batería mediante paneles solares. La tensión de la batería fue aplicada a un módulo tipo Step-up (Tabla 5.j), la cual, además de incrementar la tensión, también regula la salida a 5V, los cuales fueron utilizados para alimentar el resto del circuito electrónico. Además, se instaló un chip de comunicación inalámbrica con antena (Tabla 5.k) con una banda de frecuencia de 2,4 GHz, tanto en las trampas como en la Base, para permitir tener mayor alcance de señal entre las mismas (Fig. 15).

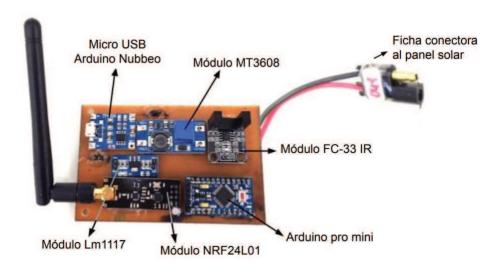


Figura 15. Electrónica correspondiente a la trampa del Prototipo 3 (Fuente: elaboración propia).

A la Base se le incorporó un Módulo lector de Memoria Micro SD (Micro Secure Digital) (Tabla 5.h) para poder acceder fácilmente a la tarjeta de memoria (SD) donde se

almacena la información proveniente de cada trampa (Fig. 16). A través de una comunicación serial por medio de un microcontrolador pro mini (Tabla 5.1), se logró leer dichos datos y de este modo obtener mayor cantidad de información de cada trampa (fecha, hora, etc.) (Fig. 17).

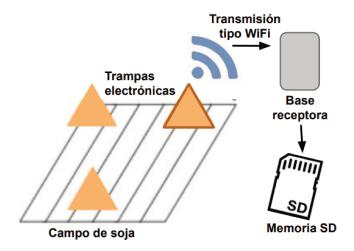


Figura 16. Modelo de comunicación entre las trampas y la Base del Prototipo 3 y la obtención de la información (Fuente: elaboración propia).

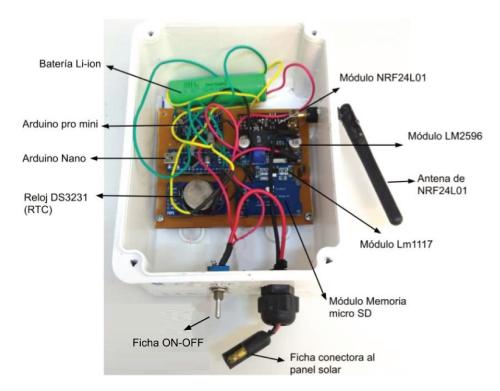


Figura 17. Detalle de la electrónica de la Base del Prototipo 3 (Fuente: elaboración propia).

# Prototipo 4 basado en sensores infrarrojos (IR) y dispositivo eléctrico (campaña 2018/19):

Para el cuarto prototipo se rediseñó completamente la trampa. Se fabricó un dispositivo eléctrico con varillas de metal dispuestas verticalmente en la parte superior de la trampa y a las cuales se les suministró una carga de alto voltaje. En el momento que un insecto (cuyo cuerpo es conductor) ingresa a la trampa y hace contacto con las varillas, se produce una descarga eléctrica que lo neutraliza, de esta forma, los insectos caen por el embudo forzándolos a pasar por los sensores para ser contabilizados.

Para ello, se incorporó una placa con un circuito electrónico ya diseñado obtenida de las conocidas "raquetas mata moscas" (Tabla 5.l). Este circuito consistió en un oscilador electrónico, un transformador y un multiplicador de alta tensión, los cuales son los encargados de producir las descargas cuando el insecto entra en contacto con las varillas metálicas (Fig. 18).

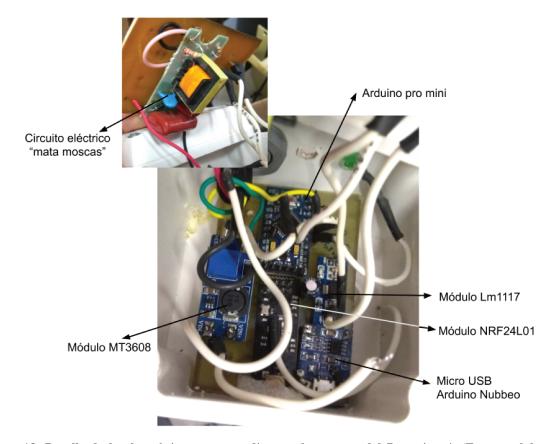


Figura 18. Detalle de la electrónica correspondiente a la trampa del Prototipo 4 (Fuente: elaboración propia).

La Base también fue modificada para que tenga la capacidad de enviar la información recibida de cada trampa a través de un mensaje de texto a un servidor web o teléfono móvil, que se logró mediante la incorporación de un Reloj RTC (Real Time Clocks) (Tabla 5.n) y un Módulo A6 (Tabla 5.o). A través de GPRS/GSM, el módulo A6 permite guardar y luego, mandar los registros de todas las trampas a un software en la nube el cual se encarga de procesarlos y enviarlos como un mensaje de texto. De este modo, los datos llegan diariamente a una computadora o celular sin necesidad de ir a revisar la tarjeta de memoria al campo (Fig. 19). Mediante el RTC se pudo programar el sistema para que la información sea enviada cada una hora, todos los días (Fig. 20).

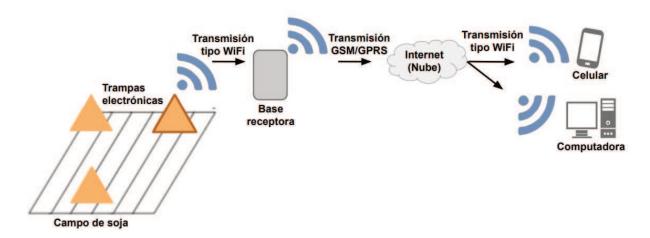


Figura 19. Modelo de comunicación entre las trampas y la Base del Prototipo 4 y la obtención de la información (Fuente: elaboración propia).

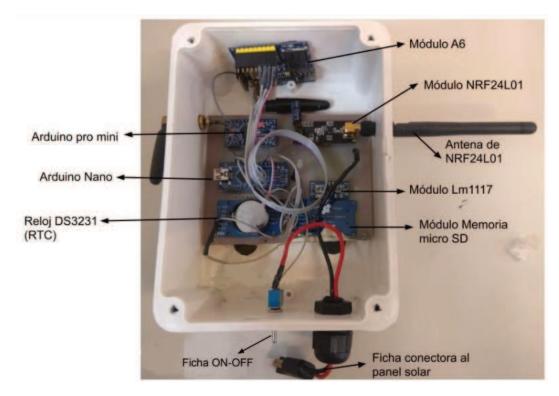


Figura 20. Detalle de la electrónica correspondiente a la Base del Prototipo 4 (Fuente: elaboración propia).

#### Prototipo 5 basado en toma de imágenes (campaña 2019/2020)

Para este último prototipo se rediseñó completamente la trampa, ya sea estructuralmente como en su electrónica. Esta última consistió en un módulo A6C (Tabla 5.p) con cámara incorporada, el cual fue programado para tomar una imagen por día de la superficie con pegamento donde las plagas fueron atrapadas. Esta nueva electrónica, permitió poder identificar a los artrópodos capturados, ya que con los prototipos anteriores, sólo se podía contabilizar, pero no determinar la especie (Fig. 21).

En este caso, no se utilizó la Base receptora, debido a que la misma trampa tenía la capacidad de enviar automáticamente su propia información. Esto se logró con la incorporación del módulo A6C, con el cual a través de un chip móvil, se pudo enviar los datos a través de señal de celular (3G/4G) al servidor en la nube. Las imágenes obtenidas tuvieron una resolución aproximada de 2 Mpx, lo que permitió alcanzar el tamaño óptimo, reduciendo el consumo de datos y facilitando el envío de la información. Las fotos pudieron

ser visualizadas a través de una computadora o en el teléfono celular (Fig. 22). También, se incorporó un RTC para que el envío de la información se realice una vez al día. Este sistema a su vez, permitió reducir el gasto energético del sistema, ya que el mismo se mantuvo en modo reposo hasta el momento de la toma de las imágenes. La energía utilizada para su funcionamiento fue mediante una batería de Li-ion y dos paneles solares para su carga.

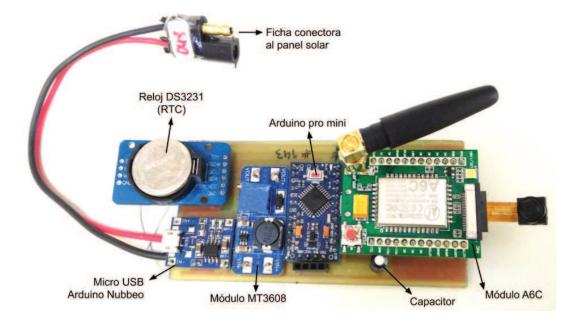


Figura 21. Detalle de la placa electrónica correspondiente a la trampa del Prototipo 5 (Fuente: elaboración propia).

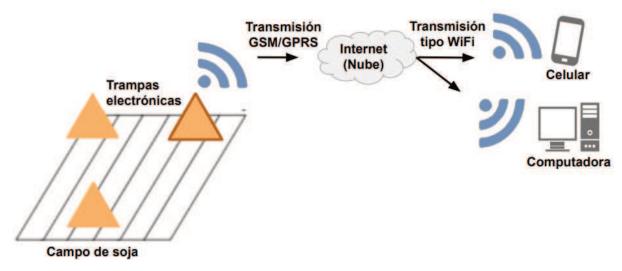


Figura 22. Modelo de comunicación entre las trampas y la Base del Prototipo 5 y la obtención de la información (Fuente: elaboración propia).

#### 3.3. Evolución en la recepción y visualización de los datos

## Prototipos 1, 2 y 3

Para los Prototipos 1, 2 y 3 en el momento en que la trampa registró el ingreso de un insecto, la información fue enviada de forma automática a la Base. En los Prototipos 1 y 2 los datos fueron almacenados en una memoria interna y descargada a una computadora a través de un puerto USB, mientras que en el Prototipo 3, fueron almacenados en una memoria SD. En ambos casos los registros se descargaron a una PC con frecuencia semanal. Las capturas se registraron como: Nº de trampa y Hora de captura (Fig. 23). Cada registro perteneció a un insecto determinado, permitiendo conocer en qué trampa o zona se encontraba y la hora de su ingreso a esta. De esta manera, se pudo determinar cómo se dispersaba la plaga en el campo, cuáles eran las áreas de mayor densidad de chinches y cuáles eran los momentos de mayor actividad de estos insectos.

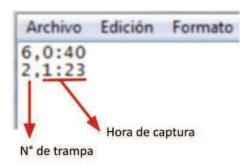


Figura 23. Visualización de los datos en una computadora de los Prototipos 1, 2 y 3 (Fuente: elaboración propia).

#### Prototipo 4

En este prototipo la Base tuvo la capacidad de enviar la información de cada trampa a través de un mensaje de texto a un celular. Para ello, se desarrollaron dos generaciones de Bases de acuerdo a la configuración establecida para el envío, procesamiento y visualización de los datos. En la 1º Generación los registros fueron recibidos diariamente, cada una hora, mostrando las detecciones obtenidas de las trampas que indicaron capturas (Fig. 24).



Figura 24. Datos registrados por la base de 1° Generación, de acuerdo a la fecha, ID de la trampa y número de capturas obtenidas cada una hora en cada trampa (Fuente: elaboración propia).

En la 2° Generación, como se observó que no era necesaria tanta cantidad de datos diarios, la Base fue programada para encenderse y enviar la información una vez al día. Por lo tanto, los datos visualizados fueron sobre las capturas acumuladas de las trampas donde se había advertido algún ingreso. Además, se pudo detectar si ocurrió un error durante el envío (Fig. 25).

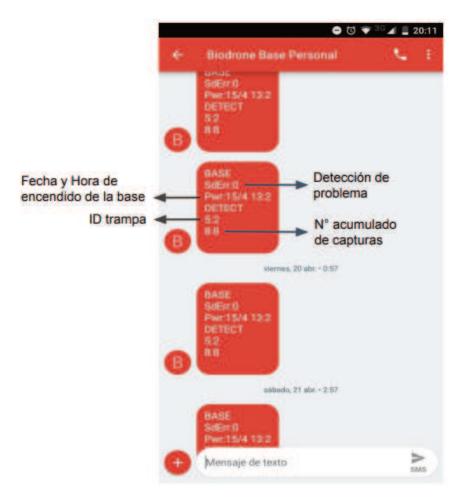


Figura 25. Datos registrados por la Base de 2° Generación, de acuerdo a la fecha, hora de encendido, detección de algún problema, ID de la trampa y número de capturas acumuladas en cada trampa (Fuente: elaboración propia).

Este sistema permitió conocer la densidad poblacional de las chinches diariamente y sin la necesidad de ir al campo para obtener dicha información. Asimismo, se pudieron establecer los momentos de mayor densidad de plagas y, por lo tanto, las zonas más problemáticas.

## **Prototipo 5**

En este caso, cada trampa tuvo la capacidad de enviar la información registrada a un software en la nube a través de la señal de telefonía móvil, una vez al día. Las imágenes recibidas se pudieron visualizar a través de una PC o en el teléfono celular (Fig. 26). Luego,

cada una fue analizada y se contabilizaron los insectos capturados en forma manual. De esta forma, además de detectar la presencia de chinches, se pudo identificarlas, generando mayor precisión en el monitoreo.

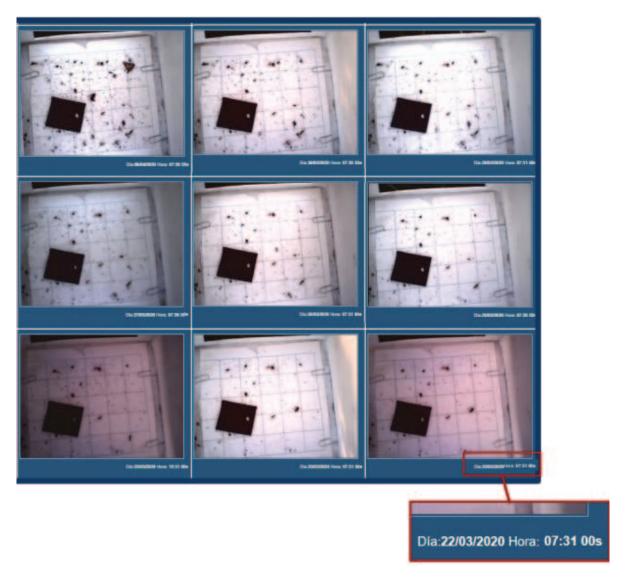


Figura 26. Visualización en una computadora de las imágenes tomadas por una trampa de varios días consecutivos, en donde se puede observar la evolución en las capturas de insectos. En el detalle se indica el día y la hora en la que fue tomada la fotografía (Fuente: elaboración propia).

## 4. Discusión y Conclusiones

El seguimiento mediante trampas electrónicas de insectos considerados plagas potenciales, brinda una solución innovadora para el MIP. Permite el monitoreo en tiempo real de sus poblaciones, de forma automática, aumentando la eficiencia en los registros, ahorrando tiempo y costos de personal. En nuestro caso además, con los Prototipos 3, 4 y 5 se pudo acceder a la información desde un teléfono móvil o desde una computadora, de modo que fue posible monitorear en forma remota, sin necesidad de ir al campo y obteniendo datos actualizados de las plagas presentes en el cultivo.

En relación a los prototipos con sensores infrarrojos (Prototipo 1, 2, 3 y 4), si bien son una opción económica y sencilla de desarrollar, su utilidad es limitada. En este caso, sólo se pueden contabilizar los insectos u objetos caídos, pero no permite su identificación, por lo que es necesario realizar una revisión periódica de las trampas para evitar posibles falsos positivos, y una recolección de los ejemplares capturados para su posterior reconocimiento. En cambio, las que tienen la capacidad de enviar una imagen de las capturas obtenidas, permiten contar e identificar a los insectos en forma remota, en tiempo real y evitando errores. Esto brinda una ventaja mucho mayor en la detección de las plagas. En nuestro caso, las imágenes tomadas tuvieron una resolución de 2 Mpx que, según Sciarretta y Calabrese (2019), es la mínima que se requiere para tener una correcta clasificación de los insectos. Además, estos autores señalan que el número de imágenes está limitado al consumo del sistema, y que una o unas pocas fotografías por día son factibles. En este aspecto, se logró un consumo mínimo con una sola fotografía al día, aunque podría haberse tomado una mayor cantidad, manteniendo aún así, un consumo energético bajo.

La influencia del prototipo de trampa en la tasa de capturas de los insectos a campo, será descrita en el Capítulo 4, sin embargo, es importante destacar la importancia de un buen diseño y un correcto funcionamiento para tal fin. Cada modelo desarrollado en este trabajo sirvió para ir mejorando el siguiente, optimizando su rendimiento y eficiencia en la detección. Nuestros esfuerzos están puestos en continuar evolucionando en este tipo de tecnología. El siguiente paso será incorporar un algoritmo de reconocimiento automático de los insectos fotografiados (Ding y Taylor 2016; Sciarretta y Calabrese 2019; Lima et al. 2020). Si bien se

hicieron avances importantes en cuanto a la transmisión y envío de la información, se continuará investigando nuevas alternativas que permitan reducir costos de comunicación (Sciarretta y Calabrese 2019).

Sin lugar a dudas que esta tecnología tiene potencial para reducir significativamente los costos de monitoreo de insectos en los programas de MIP, al automatizar las operaciones de mano de obra intensiva para el seguimiento de los artrópodos. Además, de reducir costos económicos, estas trampas proporcionarían datos en tiempo real de la fluctuación poblacional de la plaga, lo que permitiría tomar mejores decisiones para su manejo y control.

## **CAPÍTULO 3**

Uso de diferentes atrayentes para el monitoreo de chinches fitófagas



TESIS DOCTORAL - LUCIANA BOLLATI

## USO DE DIFERENTES ATRAYENTES PARA EL MONITOREO DE CHINCHES FITÓFAGAS

#### 1. Resumen

Si bien el uso de trampas cebadas con feromonas para el monitoreo de insectos plaga es uno de los métodos más utilizados, se conoce que los estímulos visuales para el trampeo de estos fitófagos son de suma importancia. En este trabajo se planteó aislar e identificar feromonas de *Nezara viridula* en laboratorio, para optimizar la aplicación de las trampas sobre esta especie y comparar su eficiencia con la feromona comercial de *Euschistus heros*. Sin embargo no se obtuvieron los resultados esperados, ya que en los ensayos en laboratorio, la feromona no fue atractiva sobre las especies en estudio. Además, no se obtuvieron los compuestos deseados en las extracciones de feromona que se realizaron. Por otro lado, se propuso determinar la preferencia de colores de *N. viridula* y *P. guildinii* como atrayente alternativo y su implementación en las trampas de monitoreo. Esto se logró mediante ensayos en laboratorio con papeles y luces led de diferentes colores y ensayos a campo con trampas desarrolladas en las campañas 2015/16 y 2019/20. En base a estos ensayos, se logró determinar la preferencia de estos insectos hacia el color azul y blanco. Sin embargo, es fundamental ampliar los estudios de este tipo de atrayentes, para su correcta implementación en los Programas de Manejo Integrado de Plagas.

#### 2. Introducción

Los pentatómidos producen una amplia variedad de compuestos químicos, entre ellos se encuentran las feromonas, las cuales se pueden clasificar en: sexuales, de agregación y de alarma (Borges et al. 2011b). Estudios preliminares sobre el comportamiento de machos y hembras de chinches durante el cortejo, han demostrado la existencia de una comunicación sonora-vibratoria generada por la hembra sobre la planta (sustrato) que estimula al macho a liberar feromonas sexuales para atraerla (Werdin Gonzales 2010).

Existen numerosos trabajos publicados acerca del aislamiento y estudio de estos semioquímicos. En relación a las especies en estudio varios autores han logrado aislar e identificar la composición de la feromona sexual de *N. viridula*. Sus principales componentes fueron: trans-(Z)-epóxido bisaboleno (trans-Z-EBA) ((Z)-(1'S,3'R,4'S) (-)-2-

(3',4'-epoxi-4'-metilciclohexil)-6-metilhepta-2,5-dieno) y su isómero cis (cis-Z-epóxido bisaboleno). Por su parte, la feromona de *P. guildinii* se compone principalmente de: (7R)-(+)-β-Sesquiphellandrene (Werdin Gonzales 2010; Borges et al. 2011b). Otros estudios a campo han demostrado que la composición de estos semioquímicos en algunas especies de chinches atrae a otras. Este es el caso del estudio llevado a cabo en Brasil por Borges et al. (1998), en donde se instalaron trampas con cebos de feromonas sexuales de *Euschistus heros* (F.) para su monitoreo en cultivos de soja. Esta consistió en una mezcla estereoisomérica de 2,6,10-trimetiltridecanoato de metilo, la cual permitió capturar varios pentatómidos, incluidos *N. viridula y P. guildinii* (Tabla 6).

Tabla 6. Estructuras de las feromonas sexuales de *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* y *Euschistus heros* (Fuente: tomado de Borges et al. 2011b).

Compounds	Structure	Species
Methyl 2,6,10-trimethyltridecanoate	all like	Euschistus heros
Methyl E 2,Z4- decadienoate	~~~,	Euschistus heros
Methyl 2,6,10- trimethyldodecanoate	J. J. J.	Euschistus heros
(7R)-(+)-β-Sesquiphellandrene		Piezodorus guildinii
Methyl E2, Z4, Z6-decatrienoate	~~	Thyanta perditor
cis-Z-Epoxybisabolene trans-Z-Epoxy-bisabolene	Jan Jan	Chinavia sp. Nezara sp.

Según lo documentado por varios autores, esto puede deberse a que las demás especies de chinches usan estos componentes sexuales de E. heros, que es la especie más abundante en cultivos de soja del centro de Brasil, para encontrar sitios de comida y oviposición (Borges et al. 1998; Pires et al. 2006; Borges et al. 2011a). Por su parte, Borges et al. (1999), reporta que la atracción de P. guildinii hacia ellos, es debida a la existencia de dos compuestos comunes 2,6,10-trimetildodecanoato entre ambas especies. Estos son: de metilo 2,6,10-trimetiltridecanoato, que si bien se encuentran en distintas proporciones, ambos están presentes en la feromona sexual de E. heros y ambos forman parte del sistema de comunicación de P. guildinii.

Por lo tanto, el uso de trampas con feromonas sexuales son buenas estimadoras del tamaño poblacional de estos insectos y es una herramienta con alto potencial en el cultivo de soja. Su implementación permite la detección rápida de las chinches para poder tomar las medidas de control adecuadas, antes de que se produzcan los daños (Pires et al. 2006; Borges et al. 2001b).

El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar feromonas de *N. viridula* en laboratorio, para optimizar la aplicación de las trampas sobre esta especie y comparar su eficiencia con la feromona comercial de *E. heros*.

## 3. Materiales y Métodos

#### 3.1. Sitio de recolección de diferentes estadios fenológicos de N. viridula y P. guildinii

La cría se inició a partir de huevos, ninfas y adultos de las especies estudiadas, recolectados sobre diferentes plantas hospedadoras (espontáneas y cultivadas) en campos ubicados en las localidades de Sunchales (30°56′39″S 61°33′41″O) y Rafaela (31°16′00″S 61°29′00″O). Ambas ciudades pertenecen al departamento Castellanos, siendo Rafaela su capital y se encuentran localizadas en el centro-oeste de la provincia de Santa Fe (Fig. 27). (Rafaela, s.f.; Sunchales, s.f.).



Figura 27. Ubicación de las localidades Sunchales y Rafaela a nivel nacional y provincial.

Las recolecciones de los insectos se realizaron con el método de paño vertical, las cuales se realizaron cada quince días y se iniciaron en diciembre hasta abril, ya que en esta etapa es donde se encuentra mayor densidad de chinches en el cultivo de soja (Gamundi y Sosa 2007; Borges et al. 2011a) (Fig. 28). Los insectos recolectados fueron llevados al laboratorio para su acondicionamiento y cría.

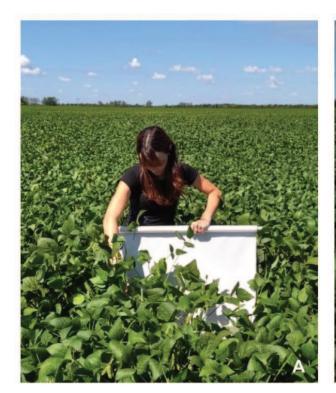




Figura 28. Técnica de paño vertical para muestreo y recolección de chinches. A y B) Recolección de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula* en campo de soja (Fuente: elaboración propia).

#### 3.2. Acondicionamiento en laboratorio de la cría de ambas especies de chinches

Los trabajos se iniciaron con el establecimiento de colonias en laboratorio de *P. guildinii* y *N. viridula*. Estos fueron ejecutados en el Centro de Innovación Tecnológica Empresarial y Social (CITES). Para ello, los insectos recolectados a campo fueron separados y agrupados de acuerdo a la especie y estado fenológico que presentaban: ninfas de estadios II, III, IV y V y adultos. Estos últimos a su vez, fueron sexados de acuerdo a la morfología de sus genitalias (Azmy 1976) o por comportamientos de cópula.

Una vez realizadas las identificaciones de las especies, se las crió en forma separada en recipientes de plástico (Fig. 29). Para evitar mortalidad, a las ninfas del 2° estadio, se las

separó en grupos de 15-20 individuos y se las colocó en recipientes plásticos de 13 x 7 x 3 cm con la tapa cubierta con tela de seda y papel absorbente humedecido en la base. Los adultos fueron sexados y se colocaron de a 10 parejas en jaulas de plástico de 28 x 20 x 15 cm, con el techo con malla plástica, provistas de papel absorbente en la base para la oviposición y facilitar la recolección de los desoves y trozos de papel como refugio.

Los huevos obtenidos de las colonias se acomodaron en cajas de Petri con el fondo cubierto con papel absorbente humedecido y se los observó diariamente hasta su eclosión. Las ninfas recién emergidas o del 1° estadio, se colocaron en cajas de Petri acondicionadas del mismo modo que los huevos. Tanto las ninfas, como los adultos fueron alimentados cada 48 hs con frutos frescos de *Ligustrum lucidum* (Ait.), recolectados de árboles urbanos y/o vainas de *Phaseolus vulgaris* (L.), las cuales fueron compradas. Las colonias fueron mantenidas bajo condiciones controladas de T° 27  $\pm$  3 °C, H 60  $\pm$  10 % y fotoperiodo 14 hs de luz (adaptado de Serra y La Porta 2001; Silva et al. 2012) (Fig. 29). A partir de los adultos de la F4 de *N. viridula* y *P. guildinii* obtenidos en laboratorio, se realizaron los respectivos ensayos.



Figura 29. Cría en laboratorio de huevos, ninfas y adultos de *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii* (Fuente: elaboración propia).

#### 4. Uso de diferentes atrayentes

## 4.1. Feromona sexual comercial de Euschistus heros

#### 4.1.1. Materiales y Métodos

Como se mencionó en el Capítulo 2, cada trampa electrónica contó con cebos de feromona sexual para atraer a los insectos de interés. Como actualmente no se encuentran en el mercado cebos específicos de *N. viridula y P. guildinii*, se utilizaron los de *Euschistus heros* elaborados por la Empresa ChemTica Internacional S.A. (Costa Rica), cuya composición actúa como atrayente de las especies en estudio (Borges et al. 1998; Zarbin et al. 2000) (Fig. 30).



Figura 30. Cebo de feromona sexual de *Euschistus heros* de la Empresa ChemTica Internacional S.A (Fuente: elaboración propia).

Para poner a prueba la eficiencia de la feromona comercial de *E. heros* frente a las dos especies en estudio, se realizaron pruebas de elección mediante un olfatómetro, ya que es una de las metodologías más utilizada para este tipo de ensayos. El mismo consistió en una estructura de vidrio en forma de Y con una porción principal de 20 cm de largo y dos brazos de 15 cm de longitud, con un diámetro de 4 cm cada uno. Al extremo final de cada brazo se le incorporó un recipiente donde se colocó la fuente de olor (feromona) o el control (agua). Cada uno se conectó con una manguera a un recipiente común con agua y éste a una bomba para pecera, con la cual se proporcionó aire humidificado para la dispersión de la feromona (3,5 l/min). Para evitar la contaminación con olores provenientes del exterior, antes de que el aire sea humedecido fue filtrado haciéndolo pasar por carbón activado (Fig. 31).

Para los ensayos se colocó el olfatómetro sobre una mesa, en forma horizontal, en una habitación con luz fluorescente y a una temperatura de 26 ± 1°C. Las pruebas fueron realizadas entre 9:00-18:00 hs, de acuerdo con el período de mayor actividad de estos insectos observada en laboratorio y a campo (Zarbin 2000; Ulhoa et al. 2020; Moliterno et al. 2021). Se colocó 20 µl de la feromona comercial pura de E. heros sobre trozos de papel de filtro de 3 x 3 cm y se los ubicó en uno de los brazos. Como se desconocía el solvente que contenía la feromona, como control se utilizó agua (20 µl), la cual fue colocada en papel de filtro del mismo tamaño que los anteriores en el otro brazo. Para evitar errores, después de cada réplica se reemplazó el trozo de papel que contenía la feromona y el que contenía el control, y las posiciones de ambos se fueron alternando entre réplica para evitar cualquier error posicional. Se utilizaron 30 hembras vírgenes de la misma edad de cada especie, siendo cada insecto una réplica. Cada chinche fue colocada por medio de un pincel, en el extremo del brazo principal y luego de un período de aclimatación de 3 min, se inició el flujo de aire. Mediante observación directa, se registró el comportamiento durante 15 min por réplica. Se consideró como la elección del insecto, al primer extremo que escogió y que permaneció por lo menos durante 3 min en él. Mientras que los individuos que durante 10 min no optaron por ninguno de los dos tratamientos, se los consideró como una respuesta negativa, y se los excluyó en los análisis estadísticos. El olfatómetro fue lavado cada 5 repeticiones con agua y jabón líquido y se lo secó a 80°C para evitar que queden residuos del atrayente que puedan influir en la respuesta de los insectos (Borges et al. 2011a; Soldi et al. 2012; Blassioli-Moraes et al. 2020; Ulhoa et al. 2020; Moliterno et al. 2021).

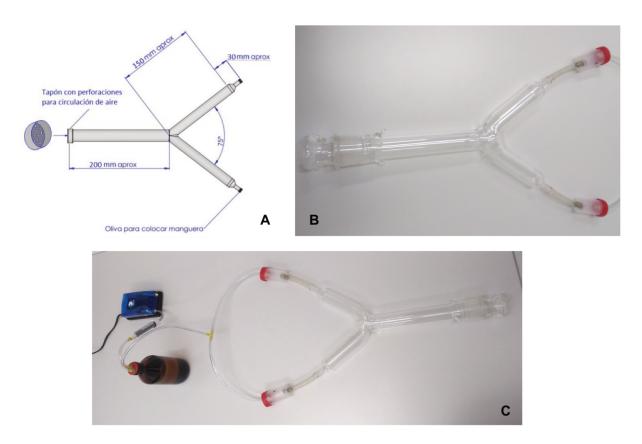


Figura 31. Olfatómetro. A) Vista esquemática B) Vista general. C) Equipo en funcionamiento (Fuente: elaboración propia).

#### Análisis Estadístico:

Los datos fueron comparados mediante tablas de contingencia con la prueba Chi-cuadrado (p<0,05) para determinar si existían preferencia de los insectos hacia alguno de los tratamientos. Para ello, se utilizó el programa estadístico InfoStat 2020 (Di Rienzo et al. 2020).

#### 4.1.2. Resultados

Cuando se puso a prueba la feromona comercial de *E. heros* como atrayente de *N. viridula* y *P. guildinii* (*Ensayo 1*), no se obtuvieron diferencias significativas entre esta y el control en ninguno de los casos ( $\chi^2=0$  y p>0,9999;  $\chi^2=0,14$  y p=0,7055, respectivamente), no habiendo preferencia hacia la feromona probada por parte de las especies en estudio (Fig. 32).



Figura 32. Eficiencia como atrayente de la feromona comercial de *Euschistus heros* sobre *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii*.

#### 4.1.3. Discusión y Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos, ninguna de las dos especies de chinche fue atraída hacia la feromona comercial. Esto pudo deberse a que la concentración de la feromona probada era muy alta y generaba la saturación de los receptores de olor de los insectos. Esto refleja que la feromona comercial tiene una concentración lo suficientemente alta para ser colocada a campo, lo que dificulta su aplicación en laboratorio. Sin embargo, en un estudio realizado por Borges et al (2011b) la concentración no influyó en la atracción de los insectos. En este, se probaron concentraciones 100 veces mayores entre muestras sintéticas y el extracto puro, no afectando la tasa de atracción. Además, esta investigación sugiere que las feromonas sintéticas pueden no ser tan atractivas como la feromona natural liberada por estos fitófagos.

Por su parte, otros autores han informado problemas análogos a este estudio durante sus intentos por realizar ensayos con estos semioquímicos. Han observado que las hembras de estas chinches no respondieron a los compuestos sexuales de los machos que se les ofreció, tal como ocurrió en este trabajo (Aldrich et al. 1987, 1993; Brézot et al. 1994; Ho y Millar 2001). Por el momento no se conoce con exactitud la causa de esta falta de atracción por parte de estas plagas, por lo que se continuarán los esfuerzos para determinarla. Por otra parte, debido a que las pruebas realizadas con la feromona comercial no dieron resultados positivos, se decidió realizar la extracción de compuestos sexuales de *Nezara viridula*.

#### 4.2. Extracción de feromona sexual de Nezara viridula

#### 4.2.1. Materiales y Métodos

Para aislar las feromonas de *Nezara viridula* se empleó el método denominado "Colección de volátiles", el cual implica la captura de los componentes volátiles producidos por el insecto en un período de tiempo, ya sea en una trampa fría o en un sólido adsorbente (carbón activado). Se colocaron 10 hembras y machos vírgenes en un recipiente de vidrio separados y los compuestos volátiles emitidos fueron colectados utilizando un flujo de aire humedecido y filtrado con carbón activado durante 72 hs. El flujo de aire se generó mediante la utilización de una bomba de vacío, a la cual se le anexó una manguera conectada a un matraz kitasato. A este último se le adaptó en su boquilla un recipiente con perforaciones para que ingrese el aire y en el cual se colocó un papel absorbente y carbón activado en polvo. Luego, encima de éste se anexó un Erlenmeyer de vidrio invertido que contenía a los insectos, al cual se lo dividió en dos porciones mediante papel film, colocando los machos en la parte inferior y a las hembras en la superior.

Los volátiles liberados por los machos quedaron atrapados en los filtros envasados con carbón activado (Fig. 33). Para recuperarlos del carbón activado, fueron lavados con etanol 96% (EtOH) y luego, centrifugados para obtener la fase líquida separada de la sólida (Borges y Aldrich 1994; Millar et al. 2002).



Figura 33. Sistema de recolección de volátiles generados por machos de *Nezara viridula* (Fuente: elaboración propia).

Las muestras líquidas obtenidas fueron enviadas para su análisis e identificación mediante Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas (GC/MS), al Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba (IFIQC) de la Facultad de Ciencias Químicas (Universidad Nacional de Córdoba - CONICET). Al no tener una muestra testigo de feromona sexual de *N. viridula*, se envió para su comparación una muestra de feromona comercial de *E. heros*. Esta feromona se compone de las mismas estructuras químicas que presenta la feromona de *N. viridula* y que actúan como atrayentes sexuales de la especie (Borges et al. 1998; Zarbin et al. 2000; Borges et al. (2011b). Además, se analizó una muestra del disolvente (EtOH 96%) para corroborar que no se observen picos que muestren un falso positivo.(ANEXO 3).

#### 4.2.2. Análisis de la muestra por GC/MS

Se entregaron tres muestras en tubos Eppendorf. Las mismas se encontraban rotuladas como Feromonas *Nezara viridula* EtOH 96%, Feromona comercial *E. Heros*, dilución 1/100 y pura.

La metodología empleada por el IFICQ para su análisis fue la siguiente: CMS, Clarus 560, Perkin Elmer. Los datos fueron adquiridos empleando el programa TurboMass 5.4.2. Columna: DB5 (30 m, 0.25 mm ID, 0.25 m de partícula), marca Perkin Elmer. Carrier: Helio (31.8 psi), Inyector: 250°C. Programa: Temp inicial 50°C (1 min), Rampa: 10°C/min, Temp Final 290°C. La muestra fue suministrada en modo de inyección Splitless. El cromatograma fue obtenido en modo "scan", desde m/z =50 a m/z =350 (scan time: 0.2 s, inter-scan time: 0.1s), solvent delay: 5 min

#### 4.2.3. Resultados

La identificación de los picos principales se realizó por comparación con los espectros de las Bibliotecas del programa NIST MS Search 2.0. (ANEXO 3).

En la Tabla 7 se resumen los resultados encontrados:

Tabla 7. Compuestos presentes en las muestras analizadas. Nombre de los compuestos, especies de insectos de las cuales se los obtuvo, datos de la molécula encontrada y tiempo de retención (Fuente: datos proporcionados por IFIQC)

Compuestos	Especies	Datos de la molécula	Tiempo de retención (min)
Metil 2,6,10- trimetiltridecanoato	Euschistus heros	PM: 270 Nist: 131722	No hay
Metil 2,6,10- trimetildodecanoato	Euschistus heros	PM: 256.42 CAS: 68043- 24-3	No hay
Metil E 2, Z4- decadienoato	Euschistus heros	PM: 1823 CAS: 4493-42- 9	14.12
Cis-Z-Epoxybisaboleno	Nezara sp	PM: 220 CAS: 15-071-6	No hay
Trans-Z-Epoxybisaboleno	Nezara sp	PM: 220 Nist: 131711	No hay

#### 4.2.4. Conclusiones

En la muestra analizada no se observó presencia de los compuestos de interés. Esto pudo deberse a que la muestra tenía poca concentración de ellos, por la baja liberación de feromona por parte de los insectos; porque los volátiles no se absorbieron completamente en el carbón activado o porque en el momento en que se lavaron los compuestos con el disolvente, no se recuperaron completamente, resultando en una concentración menor a la necesaria para su registro. Otra causa pudo haber sido que el método de extracción empleado no fue eficiente para la obtención de los volátiles deseados.

En base a estos resultados, se continuarán los esfuerzos para poder aislar los compuestos sexuales de las especies en estudio y de este modo, poder incluirlos dentro de los Programas de MIP como atrayente para su monitoreo.

#### 4.3. Preferencia de colores

#### 4.3.1. Introducción

Si bien el uso de trampas cebadas con feromonas para el monitoreo de insectos plaga ha sido ampliamente estudiado, se conoce que los estímulos visuales para el trampeo de estos fitófagos son de suma importancia. La influencia en el color de las trampas que se utilizan para el seguimiento de las plagas, en muchos casos, es clave para lograr las capturas de forma eficiente (DiMeglio et al. 2017; Bae et al. 2019). Se han realizado varios estudios sobre la preferencia de colores de ciertas especies de pentatómidos entre ellos el documentado por Leskey y Hogmire (2005), en donde se registró que Euschistus heros es atraído principalmente por el color amarillo. Por su parte, Krinski et al. (2013), realizaron investigaciones con esta misma especie en donde pudieron observar que sustratos de color blanco o amarillo son los elegidos por la chinche para la oviposición. Además, otros estudios sobre la preferencia de color en trampas piramidales en Halyomorpha halys Stál (Hemiptera: Pentatomidae), informaron que el negro era el más atractivo para este insecto (Leskey et al. 2012). Por otro lado, ensayos en laboratorio sobre Bagrada hilaris Burmeister (Hemiptera: Pentatomidae), han demostrado que este pentatómido es atraído mayormente por el negro y el violeta (Joseph, 2014). Otro ejemplo, es la investigación llevada a cabo por DiMeglio et al. (2017), en donde trabajaron con Murgantia histrionica Hahn (Hemiptera: Pentatomidae) y observaron que la misma prefirió los colores verde y negro. Todas estas investigaciones destacan la importancia del color en las trampas utilizadas para el seguimiento de los insectos plagas. Por consiguiente, se planteó como objetivo determinar la preferencia de colores de N. viridula y P. guildinii como atrayente alternativo y su implementación en las trampas de monitoreo.

#### 4.3.2. Materiales y Métodos: Ensayos en laboratorio

Se llevaron a cabo dos ensayos en laboratorio: Ensayo 1 y 2, los cuales se establecieron en un diseño aleatorio.

#### Ensayo 1: Papeles de colores

Se realizaron ensayos de elección con adultos de *P. guildinii* y *N. viridula* de la misma edad. Se utilizaron papeles de diferentes colores como tratamiento y papel blanco como

control. Los papeles se cortaron primero en un círculo de 14 cm de diámetro, y luego se los cortó en dos mitades iguales. Cada mitad se pegó en la base de una placa de Petri de plástico de 14 cm diámetro y 2 cm de alto, una mitad de papel de color como tratamiento y la otra mitad de papel blanco como control. Esto se realizó con cada color. Los colores utilizados fueron: azul, marrón, rojo, amarillo, anaranjado y verde (Fig. 34). Se estableció un diseño aleatorio, en donde se colocó un individuo de las especies en estudio en el centro de una de las placas y se los mantuvo por 30 min. Para evitar la incidencia de la luz exterior, se colocaron las placas dentro de un recipiente translúcido blanco. Fueron utilizados 50 insectos de cada especie (25 hembras y 25 machos), siendo cada uno considerado una réplica. Los insectos que quedaron en el centro de la placa sin elegir no se los consideró en el análisis de datos (adaptado de Reza y Parween 2006; Krinski et al. 2013; DiMeglio et al. 2017; Franco-Archundia et al. 2018; Mensah-Bonsu et al. 2020).

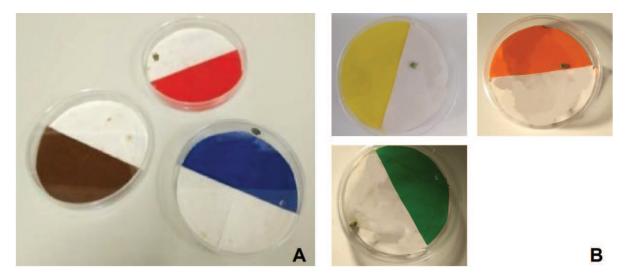


Figura 34. Ensayo con papeles de colores como tratamiento y blanco como control. A) Ensayos con *Nezara viridula*. B) Ensayos con *Piezodorus guildinii* (Fuente: elaboración propia).

#### Análisis estadístico:

Los datos fueron comparados mediante tablas de contingencia con la prueba Chi-cuadrado para determinar si existían diferencias entre los tratamientos (color) y sus respectivos controles (blanco). Luego, se realizaron las comparaciones entre tratamientos (colores), para definir la preferencia hacia algún color en particular mediante ANOVA o su equivalente no paramétrico Kruskal Wallis. En los casos que se encontraron diferencias

significativas, se realizaron sus respectivas comparaciones utilizando una prueba de Tukey. En todos los casos se trabajó con un nivel de significancia del 5%. Para los análisis de los datos se empleó el programa estadístico InfoStat 2020 (Di Rienzo et al. 2020).

#### Ensayo 2: Led de colores

Se construyó una jaula de madera de  $100 \times 50 \times 50$  cm con sus paredes, base y techo cubierta por una malla metálica y en los bordes del techo se colocó velcro (cierre tipo abrojo) para poder abrirla y cerrarla. Se utilizaron individuos adultos de *N. viridula* y *P. guildinii* de la misma edad y se realizaron cinco réplicas con ocho individuos cada una por especie. Se instalaron luces led de colores de alto brillo en los laterales de la jaula: verde  $(500 < \lambda < 570)$ , azul  $(450 < \lambda < 500)$ , rojo  $(610 < \lambda < 760)$ , violeta  $(400 < \lambda < 450)$  y naranja  $(590 < \lambda < 610)$  como tratamiento y luces led blancas como control (Fig 35). Todos los insectos fueron liberados en el centro de la jaula y se los dejó 5 min. antes de iniciar la prueba, para su aclimatación. La elección de cada chinche fue registrada como la distancia desde el centro de la jaula a la fuente de luz más próxima. Cada individuo fue utilizado una única vez. Los ejemplares que al final del ensayo quedaron en el centro de la jaula sin elegir, no se los consideró en el análisis de datos (adaptado de Cambridge et al. 2017).

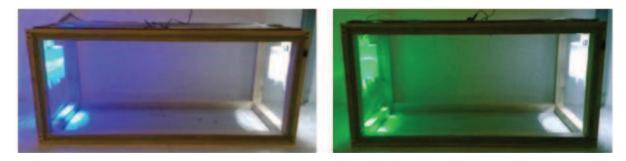


Figura 35. Ensayo con led de colores azul y verde como tratamiento y blanco como control (Fuente: elaboración propia).

#### Análisis Estadístico:

Los datos obtenidos fueron analizados mediante Test T apareado para comparar cada color (tratamiento) con su respectivo control (blanco), ya que ambos son dependientes, compartiendo la misma unidad experimental. Por su parte, para determinar si existía preferencia entre colores, se realizó un ANOVA o su equivalente no paramétrico Kruskal

Wallis y en los casos que se encontraron diferencias significativas, se realizaron sus respectivas comparaciones utilizando una prueba de Tukey. En todos los casos se trabajó con un nivel de significancia del 5%. Para los análisis de los datos se empleó el programa estadístico InfoStat 2020 (Di Rienzo et al. 2020).

#### 4.3.2.1. Resultados

#### Ensayo 1: Papeles de colores

Los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en la preferencia de colores en ambas especies de chinches, arrojando un  $\chi^2=1,58$  y p= 0,6630 para *P. guildinii* y un  $\chi^2=7,46$  y p= 0,2803 para *N. viridula*. Del mismo modo, cuando se compararon ambas especies, se obtuvo un  $\chi^2=1,88$  y p=0,5979. Por su parte, cuando se compararon los colores entre sí, para ninguna de las dos especies de chinche se obtuvieron diferencias estadísticas, mostrando un F= 1,14 y p=0,4516 en el caso de *P. guildinii* y un F= 2,48 y p=0,1685 para *N. viridula*. Estos resultados demuestran que no existe preferencia por parte de las especies de chinches estudiadas hacia los colores puestos a prueba (Figura 36).

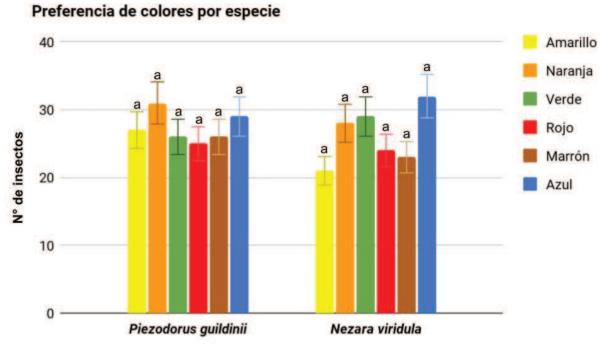


Figura 36. Preferencia de color según elección de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula*. \*Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

## Ensayo 2: Led de colores

A partir de los ensayos realizados se observaron diferencias significativas en la elección de *P. guildinii* entre las luces led de color rojo y azul respecto a sus controles (blanco) (T= 6,97 y p= 0,0022; T= 4,21 y p= 0,0136, respectivamente), mostrando mayor preferencia hacia el color azul y menor hacia el rojo. Cuando se compararon los colores entre sí, se obtuvieron diferencias estadísticas siendo su H= 15,37 y p= 0,0032, en donde los colores más elegidos fueron el azul y el violeta (Fig. 37).

Para el caso de N. viridula sólo se observaron diferencias significativas entre el control y el color azul siendo su T=0 y p=0,0399, lo que significa que esta especie tiene mayor preferencia hacia dicho color. Por su parte, cuando se compararon los colores entre sí, se registraron sólo diferencias significativas entre el violeta y el verde (F=7,11; p=0,0285) y entre este último y el azul (F=4,81 y p=0,0238) ( (Fig. 37).

Por lo tanto, se puede suponer que ambas especies tienen mayor preferencia por el color azul y violeta, no eligiendo en ningún caso a los demás colores (Fig. 37).

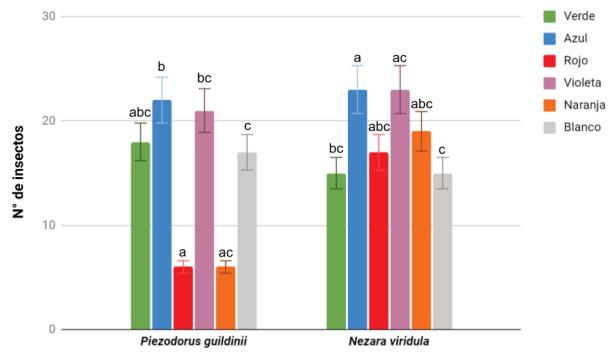


Figura 37. Preferencia de led de colores según elección de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula* . \*Medias con letras iguales no presentan diferencias significativas entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

#### 4.3.3. Materiales y Métodos: Ensayos a campo

De acuerdo a los resultados obtenidos de los diferentes ensayos en laboratorio sobre preferencia de colores, se realizaron pruebas a campo con trampas pintadas de los colores más elegidos por las chinches. En base a esto, se utilizó el azul, ya que, si bien sólo mostró diferencias significativas en los ensayos con led, se observó también cierta atracción hacia este color en las pruebas con papeles. Además, se optó por el blanco como control y por ser uno de los más escogidos. Se decidió no utilizar luces en el campo, ya que estos insectos son diurnos, por lo que las luces no serían visibles a la luz del sol y de noche atraerían a insectos que no son objeto de este estudio.

Las pruebas se realizaron en un campo de soja ubicado en la ciudad de Sunchales, Santa Fe (30°55'23.9"S 61°32'51.3"W) y se llevaron a cabo durante dos campañas productivas 2015/16 y 2019/20. Para ello, se utilizaron los prototipos de trampas desarrollados para cada temporada descritos en el Capítulo 2, pero sin la electrónica, debido a que sólo interesaba probar la eficiencia en la atracción de los insectos mediante el uso de colores. Los experimentos fueron realizados desde enero hasta abril, es decir, desde finales de la etapa vegetativa (V7) y el inicio de la reproductiva (R1) hasta la maduración fisiológica del cultivo (R7). Para ello, se realizó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial. Se instalaron 10 trampas de color azul y 10 de color blanco como control en cada campaña (Fig. 38).

Las trampas fueron agrupadas de a pares (1 blanca + 1 azul) formando diez grupos, distribuidos en forma aleatoria en el borde y en el centro del campo. De estos diez grupos, cinco fueron cebados al azar con la feromona comercial de *E. heros*, mientras que los cinco restantes no presentaron el atrayente (control). Se realizó de esta manera, para corroborar que la atracción esté dada por el color y no por la feromona. Cada trampa fue sujetada a los alambrados, a los postes de los alambrados o en varillas de plástico de aproximadamente 2 m de alto, quedando sus aberturas por encima del dosel de la planta de soja. Las trampas de cada par se ubicaron a 50 m una de otra, con una distancia de 100 m entre grupos. Los cebos de feromona fueron reemplazados cada 30 días (adaptado de Borges et al. 2011a).

En ambas campañas las trampas se revisaron semanalmente a lo largo del experimento y los insectos atrapados fueron cuantificados y diferenciados por especie.



Figura 38. Trampas de colores instaladas en campos de soja según preferencia de las chinches. Ay B) Trampa blanca y azul de la campaña 2015/16. C y D) Trampa blanca y azul de la campaña 2019/20 (Fuente: elaboración propia).

## Análisis Estadístico:

Los datos fueron analizados mediante ANOVA de dos factores (color y cebo) y las medias comparadas mediante el test de Tukey (p<0,05). Para el análisis estadístico se empleó el programa InfoStat 2020 (Di Rienzo et al. 2020).

## 4.3.3.1. Resultados

De acuerdo a la Tabla 8 se puede observar que en la campaña 2015/16 el número de insectos registrados fue mayor que en la campaña 2019/20. Si bien no se observan

variaciones en relación al color de las trampas en ninguna de las dos campañas, existen ciertas diferencias relacionadas al uso de feromona (F=27,38 y p=0,0040). En la primera campaña se observan diferencias significativas en cuanto al uso del atrayente sexual (F=17,61, p=0,0091), advirtiendo que cuando la trampa no está cebada con feromona, las capturas son nulas. En cuanto a la campaña 2019/20, si bien no existen diferencias significativas respecto al número de capturas registradas (F=1,11 y p=0,4428), hay una tendencia a la atracción de los insectos hacia trampas con feromona.

En relación a las chinches capturadas, no se observaron diferencias significativas entre especies en ninguna de las dos campañas estudiadas (2015/16 y 2019/20), obteniéndose un p=0,6662 y un p>0,9999 respectivamente.

Tabla 8. Número de capturas totales de *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii* registradas en las campañas 2015/16 y 2019/20.

Trampas	<b>Campaña 2015/16</b>		Campaña 2019/20	
	N. viridula	P. guildinii	N. viridula	P. guildinii
Blanca s/feromona	0	0	0	1
Blanca c/feromona	8	11	1	2
Azul s/feromona	0	0	0	0
Azul c/feromona	9	14	2	0

Cabe aclarar que estos ensayos sólo sirvieron como comparación entre los atrayentes probados en las trampas desarrolladas, no fueron comparados con el método de paño vertical, el que se estudiará en el Capítulo 4.

#### 4.3.4. Discusión y Conclusiones

Conforme los resultados obtenidos de los ensayos realizados sobre la preferencia de colores en ambas especies, estos coinciden con lo documentado por varios de los autores que realizaron pruebas sobre chinches. Si bien algunos documentaron que los pentatómidos son atraídos mayormente por el color amarillo, siendo en nuestro caso el menos elegido por *N. viridula* y *P. guildini*, también reportan preferencia hacia el color blanco, al igual que en

nuestros experimentos (Leskey y Hogmire 2005; Krinski et al. 2013). Además, lo observado en este estudio coincide con lo registrado por Franco-Archundia et al. (2018), en donde encontraron atracción hacia el color verde y azul en la chinche *Leptoglossus zonatus* (Dallas). Por su parte, Bae et al. (2019) reporta que las trampas amarillas con led azules atrajeron significativamente más chinches que a otras especies de insectos en campos de soja, esto concuerda con los resultados observados en nuestros experimentos con luces led.

Asimismo, en su trabajo Zela Uscamayta (2016), argumenta que varios grupos de insectos, incluyendo los hemípteros, pueden ver los colores gracias a la presencia de rhodopsinas en sus ojos, las cuales son sensibles a determinada longitud de onda lumínica. Este autor menciona que "todos los insectos tienen un pigmento sensible al verde (490 a 540 nm) y hasta la región del color naranja (600 nm). La mayoría de insectos también tienen dos pigmentos adicionales: uno que les permite ver la luz ultravioleta, otro la de color azul". A su vez, resalta que el color rojo no estimula las células de la retínula de los insectos, lo que explicaría en nuestros experimentos la baja elección a dicho color.

Por lo tanto, se puede decir que la preferencia o atracción de estos fitófagos por ciertos colores es variada y depende de la especie en estudio. Si bien existen numerosas investigaciones sobre el uso de colores como atrayentes, es fundamental ampliar los estudios en chinches ya que hay poca bibliografía documentada de ensayos en laboratorio y a campo sobre estos insectos.

## **CAPÍTULO 4**

Monitoreo automatizado de chinches fitófagas en cultivos de soja



Tesis Doctoral - Luciana Bollati

# MONITOREO AUTOMATIZADO DE CHINCHES FITÓFAGAS EN CULTIVOS DE SOJA

#### 1. Resumen

Las nuevas herramientas digitales y automatizadas en la agricultura, permiten generar información para aumentar los rendimientos y la calidad de la producción. En base a esto, se presenta el desarrollo de trampas electrónicas para el monitoreo automatizado de chinches fitófagas (Hemiptera: Pentatomidae), con el objetivo de probar su funcionamiento y eficiencia y compararlas con el método convencional de paño vertical. Estas fueron instaladas en campos de soja en Sunchales, Santa Fe, durante cuatro campañas agrícolas (2016/17, 2017/18, 2018/19 y 2019/20). Para ello, se diseñaron prototipos diferentes para cada campaña, que fueron mejorados en base a los problemas detectados durante su utilización. Se fabricaron cinco modelos que detectaron los insectos que ingresan a las trampas, a partir de sensores infrarrojos (IR) y toma de imágenes. Si bien hubo mejoras en el funcionamiento y en la eficiencia del nivel de detección, los resultados de las capturas de chinches no fueron los esperados. Esto fue consecuencia de la falta de un buen atrayente para los pentatómidos en estudio. Por esta razón, se continuarán los trabajos para lograr un monitoreo activo, en tiempo real, que reduzcan la mano de obra y generen información precisa para la toma de decisiones en el manejo de los insectos plaga.

## 2. Introducción

Las nuevas herramientas de agricultura de precisión con las cuales cuentan hoy en día los productores, son de gran importancia para el proceso productivo. La digitalización y automatización permiten incrementar la producción, hacer un uso más eficiente de los recursos, disminuyendo el impacto al ecosistema agrícola y a la salud humana. Es fundamental que los productores reciban la información necesaria para poder tomar las decisiones oportunas sobre el control de las plagas en sus cultivos (Sciarretta y Calabrese 2019; Lima et al. 2020; Roosjen et al. 2020; Suárez et al. 2021). Como se mencionó en los capítulos anteriores, los métodos de monitoreo actuales para el seguimiento de las plagas se basan en las visitas periódicas al campo o en la instalación de trampas para especies objetivos, que necesitan luego ser revisadas por un experto. Esto requiere mucho tiempo y

esfuerzo, es costoso y a menudo tiende a generar errores, que llevan al uso excesivo de agroquímicos, impidiendo alcanzar los objetivos económicos y el rendimiento de la producción (López et al. 2012; Potamitis et al. 2017; Rustia et al. 2020; Lima et al. 2020; Suárez et al. 2021). Por lo tanto, es fundamental el conocimiento sobre cuándo, dónde y qué medidas de control se necesitan para cada insecto plaga. Actualmente, los Programas de MIP están enfocados en la reducción de insecticidas y en las aplicaciones más precisas, por lo que es esencial contar con un método de monitoreo eficiente, para poder lograrlo (López et al. 2012; Ding y Taylor 2016; Rustia et al. 2020; Lima et al. 2020; Roosjen et al. 2020; Suárez et al. 2021).

Las herramientas de agricultura de precisión que actualmente se están desarrollando, permiten al productor determinar los factores que afectan a sus cultivos. Estos datos pueden ser obtenidos a partir de sensores que, combinados con plataformas digitales, logran obtener información clave para generar estrategias adecuadas de control de plagas. Las tecnologías más actuales para el seguimiento de insectos se basan principalmente en radares, imágenes térmicas o infrarrojas, equipos de video, sonorización, entre otras. Sin embargo, estas técnicas son muy costosas y de poco alcance para el sector agrícola de nuestro país. Los avances sobre los sensores con microprocesadores, la ingeniería de telecomunicaciones y el procesamiento de imágenes por inteligencia artificial, permiten tener sistemas de monitoreo automático de insectos a bajo costo. Estos pueden generar redes de sensores mediante conexión inalámbrica, permitiendo abarcar grandes superficies y comunicarse con softwares en la nube para el procesamiento de la información. Por consiguiente, un sistema de monitoreo automatizado que identifique y/o contabilice a los insectos y transmita los datos recolectados desde el campo a una computadora o teléfono celular, aumentaría la precisión de las mediciones, reduciría los gastos de mano de obra asociados con el monitoreo manual, permitiría el seguimiento de los insectos en grandes extensiones y reduciría potencialmente el uso de agroquímicos (López et al. 2012; Potamitis et al. 2014; Potamitis et al. 2017; Rustia et al. 2020; Sciarretta y Calabrese 2019; Lima et al. 2020).

En base a esto, se plantearon los siguientes objetivos: a) poner a prueba las trampas electrónicas con feromonas desarrolladas para chinches en campos de soja de la región, b) comparar los métodos de monitoreo convencionales de chinches con la captura mediante

trampas electrónicas con feromonas y c) desarrollar, a partir de los datos recolectados, un plan de acción que analice el potencial de la tecnología y su escalado.

## 3. Materiales y Métodos

## 3.1. Sitio de ensayos

Para la realización de los ensayos se seleccionaron dos campos de soja ubicados en la ciudad de Sunchales, los cuales presentaban una presión media de las especies plagas en estudio: Lote 1: 30°55'23.9"S 61°32'51.3"W y Lote 2: 31°00'24.7"S 61°28'40.0"W (Fig. 39).



Figura 39. Mapa satelital de la ubicación de los campos en donde se realizaron los ensayos (Fuente: GoogleMaps)

Cada lote escogido se dividió en ocho parcelas de aproximadamente una hectárea cada una. Dentro de cada parcela se realizaron dos tratamientos: método con paño vertical y método con trampas electrónicas cebadas con feromona sexual de *E. heros*. Cada sitio definido para el muestreo con paño vertical, se ubicó a 50 m de su correspondiente trampa

electrónica dentro de la misma parcela. De esta manera, se realizó la comparación de ambos métodos en condiciones similares (Fig. 40).



Figura 40. Mapa satelital de los lotes seleccionados (Lote 1 a la izquierda y Lote 2 a la derecha) con sus correspondientes parcelas y tratamientos dentro de cada una (P=paño vertical, T=trampa electrónica) (Fuente: elaboración propia)

## 3.2. Eficiencia de trampas electrónicas vs paño vertical

Los ensayos fueron realizados durante cuatro campañas agrícolas: 2016/17, 2017/18, 2018/19 y 2019/20, desde enero hasta abril, es decir, desde la etapa vegetativa V7 hasta la etapa de maduración fisiológica del cultivo de soja R7 (Borges et al. 2011). En cada campaña se realizó un diseño completamente aleatorizado.

El método con paño vertical se realizó siguiendo la metodología de Drees y Rice (1985) y la de Massaro y Gamundi (2006). El mismo consistió en un tubo de PVC de 8 cm de diámetro y 1 m de largo, cortado longitudinalmente a la mitad y al que se le adosó una lámina de cuerina blanca de 1 m de largo por 0,86 m de alto. El paño se colocó en la base de las plantas y se las golpeó vigorosamente diez veces, los insectos recogidos fueron identificados y cuantificados y se registraron como número de insectos/metro lineal (Saluso et al. 2007; Borges et al. 2011; Ribeiro et al. 2009) (Fig. 41). Se definieron ocho sitios de muestreo por campaña, uno por cada parcela experimental (Fig. 40). Los muestreos fueron realizados semanalmente.



Figura 41. Método de paño vertical para muestreo de *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii* (Fuente: elaboración propia)

En el caso de las trampas electrónicas, se utilizaron los prototipos detallados en el Capítulo 2 de acuerdo a cada campaña. En las temporadas 2016 al 2019 la detección se realizó mediante sensores infrarrojos (IR), que contabilizaban a los insectos capturados (Prototipos 1, 2, 3 y 4). Para los monitoreos realizados en la campaña 2019/20 se incorporó una cámara para la toma de imágenes, lo que permitió, además de contabilizarlos, poder identificarlos (Prototipo 5).

Las trampas fueron distribuídas en el lote de soja con una distancia máxima de 100 m entre cada una. Estas fueron sostenidas en varillas de plástico de aproximadamente 2 m de alto o en los alambrados, quedando sus aberturas por encima del canopeo del cultivo (Borges et al. 2011). Cada una fue cebada con la feromona sexual de *E. heros*, la cual fue reemplazada cada 30 días. Se instalaron ocho trampas por campaña, una por cada parcela (Fig. 40). Las del Prototipo 1 y 2 fueron revisadas cada dos días debido a que se requería el cambio de las baterías para su funcionamiento. En los demás prototipos, las observaciones se realizaron con frecuencia semanal, ya que como se incorporaron paneles solares, estos permitieron que se mantengan energizadas durante todo el ensayo, sin necesidad de su recarga. Además, el Prototipo 5 contaba con superficies pegajosas para las capturas, las que fueron reemplazadas cuando se encontraban con abundantes insectos, suciedad o tierra, que pudieran impedir la correcta adherencia de los mismos.

La base de comunicación correspondiente a los Prototipos 1 al 4 fue colocada en el centro del campo para la recepción de la información registrada por cada trampa vía Wi Fi. En cambio, en el Prototipo 5, no se requirió de una base debido a que la misma trampa tenía la capacidad de enviar los datos al servidor en la nube. En los Prototipos 1 y 2 la información almacenada en la base fue descargada a través de un puerto USB a una computadora, mientras que en el 3 los registros fueron guardados en una tarjeta SD. En ambos casos los datos fueron descargados semanalmente. Por su parte, en los Prototipos 4 y 5 esta fue enviada en forma automática a una PC o teléfono celular diariamente.

## Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante ANOVA o su equivalente no paramétrico Kruskal Wallis ( $\alpha \le 0.05$ ), las medias fueron comparadas mediante el test de Tukey ( $\alpha \le 0.01$ ). Se realizó una correlación lineal entre el método tradicional (paño vertical) y el método automatizado para chinches para cada campaña. Para ello, se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al. 2020).

## 3.2.1. Instalación de trampas electrónicas en campos de soja

Campaña 2016/17- Prototipo 1 (Fig. 42)



Figura 42. Trampa Prototipo 1 instalada en campos de soja (Lote 1) (Fuente: elaboración propia).

## Campaña 2016/17- Prototipo 2 (Fig. 43)



Figura 43. Trampa Prototipo 2 instalada en campo de soja (Lote 1) (Fuente: elaboración propia).

## Campaña 2017/18- Prototipo 3 (Fig. 44)



Figura 44. Trampa Prototipo 3 instalada en campo de soja (Lote 2) (Fuente: elaboración propia)

## Campaña 2018/19- Prototipo 4 (Fig. 45)



Figura 45. Trampa Prototipo 4 instalada en campo de soja (Lote 2) (Fuente: elaboración propia)

## Campaña 2019/20- Prototipo 5 (Fig. 46)





Figura 46. Trampas Prototipo 5 instaladas en campos de soja (Lote 1). A) Trampa sostenida por el poste del alambrado. B) Trampa sostenida de varillas de PVC en medio del cultivo (Fuente: elaboración propia).

#### 4. Resultados

## Eficiencia del Prototipo 1 en el monitoreo de Chinches (Campaña 2016/17)

Con el muestreo de paño vertical se registraron a lo largo de todo el ensayo un total de 195 individuos de *N. viridula* y 107 de *P. guildinii*. En las trampas electrónicas se identificaron en total 36 individuos de *N. viridula*, de las cuales 26 se encontraron en el interior y 6 en el exterior de esta. Por su parte, se registró un total de 8 ejemplares de *P. guildinii* en el interior de las trampas. Por lo tanto, los análisis estadísticos arrojan un p= 0,0054 y F= 10,79 en el caso de *N. viridula* y un p= 0,0015 y F= 15,37 para *P. guildinii*, mostrando diferencias significativas entre los métodos en ambas especies (Tabla 9 y 10). Además, se encontraron trampas donde en su interior contenían nidos de hormigas cortadoras, lo que sugiere que el diseño escogido no fue el indicado.

## Eficiencia del Prototipo 2 en el monitoreo de Chinches (Campaña 2016/17)

Los muestreos con paño vertical indicaron presencia de chinches, registrando un total de 81 individuos de *N. viridula* y 67 de *P. guildinii*. Mientras que en las trampas no se registraron capturas de las especies de interés, por lo tanto se observan diferencias significativas entre ambos métodos con un p= 0,0002 y un H= 11,29 tanto para *N. viridula* como para *P. guildinii* (Tabla 9 y 10). Solo se encontraron en el interior de algunas trampas, otros insectos como abejas, coleópteros y dermápteros (tijeretas).

Tanto en el Prototipo 1 como en el Prototipo 2, se comprobó que el rendimiento de las baterías utilizadas para energizar las trampas y la base era muy bajo, debiendo realizar un recambio de estas cada dos días.

Además, la base no contabilizaba correctamente a los insectos capturados, encontrando trampas donde se registraban numerosos falsos positivos u observándose capturas (de otros insectos) que no eran cuantificadas.

La señal entre las trampas y la base tampoco fue la esperada. Se pudo lograr un alcance de señal máximo de 80 m, ya que si se sobrepasaba esta distancia el envío y la recepción de los datos se dificultaba. Esto a su vez, impidió la correcta distribución entre las trampas y la base dentro del campo.

## Eficiencia del Prototipo 3 en el monitoreo de Chinches (Campaña 2017/18)

Como en el Lote 1 se registró muy baja presencia de chinches con muestreos con paño vertical y no se observaron capturas en las trampas durante un mes, se optó por instalarlas en el Lote 2. En este segundo campo el ensayo tuvo una duración de tres meses (febrero-abril) en donde se registraron sólo 24 ejemplares de *N. viridula* y 36 de *P. guildinii* con paño vertical en toda la temporada y sólo 2 individuos de *N. viridula* en las trampas. Por consiguiente, se observan diferencias estadísticas entre los métodos comparados, siendo p= 0,0252 y su F= 6,27 para *N. viridula* y p= 0,0032 y F= 12,60 para *P. guildinii* (Tabla 9 y 10).

Esto probablemente fue debido a las condiciones climáticas de sequía registradas en esa temporada, disminuyendo en gran medida las poblaciones de insectos plaga en general. Por otro lado, la ausencia de capturas en las trampas pudo deberse, más allá de que el atrayente no fue suficientemente efectivo, a que los insectos que ingresaron pudieron escapar sin pasar por los sensores. Esto fue solucionado con la incorporación del dispositivo eléctrico en el Prototipo 4.

Por su parte, se pudo corroborar el correcto funcionamiento de los sensores para contabilizar las capturas, ya que se registraron otros insectos (abejas, coleópteros) que fueron sensados adecuadamente. Además, se logró un aumento en el alcance de la señal entre las trampas y la base de 1 km, lo que permitió tener mayor calidad en la comunicación y ampliar la zona de distribución de las trampas en el campo.

Por otro lado, la incorporación de paneles solares permitió la carga constante de las baterías, con la cual no hubo necesidad de cambiarlas ni revisarlas durante toda la campaña.

## Eficiencia del Prototipo 4 en el monitoreo de Chinches (Campaña 2018/19):

Mediante el muestreo con paño vertical se registraron en total 204 individuos de *N. viridula* y 173 de *P. guildinii*. Pese a ello, en las trampas electrónicas sólo se observaron 13 capturas de *N. viridula* y 9 de *P. guildinii*. Por lo tanto, se obtuvieron diferencias significativas entre ambos métodos, con un p=0,0007 y F= 18,87 para *N. viridula* y p= 0,0002 y F= 25,78 para *P. guildinii* (Tabla 9 y 10).

Sin embargo, mediante este ensayo, se logró enviar los datos de las capturas registradas

por la base a un teléfono celular, lo que permitió el monitoreo diario, sin tener la necesidad de ir al campo para obtener la información. De esta manera, el seguimiento de la plaga fue más preciso y en tiempo real.

## Eficiencia del Prototipo 5 en el monitoreo de Chinches (Campaña 2019/20):

Si bien se registraron pocos individuos con el paño vertical: 65 de *N. viridula* y 49 de *P. guildinii*, en las trampas electrónicas sólo se observó presencia de 8 ejemplares de *N. viridula* y 3 de *P. guildinii*, mostrando diferencias significativas entre ambos métodos, arrojando un p= 0,0008 y un F= 9,93 en el caso de *N. viridula* y un p= 0,0003 y F= 10,94 para *P. guildinii* (Tabla 9 y 10).

Tabla 9. Número promedio de ejemplares (Media±DE) de *Nezara viridula* capturados por campaña con ambos métodos de monitoreo.

Método	n	Prot 1	Prot 2	Prot 3	Prot 4	Prot 5
Trampa Electr.	8	$3,25 \pm 1,91 \; \mathbf{a}$	$0,00 \pm 0,00$ a	$0,25 \pm 0,46$ <b>a</b>	$1,63 \pm 1,51$ <b>a</b>	$1,00 \pm 1,07$ a
Paño Vertical	8	$24,38 \pm 18,09 \mathbf{b}$	$10,13 \pm 6,10 \ \mathbf{b}$	$3,00 \pm 3,07$ <b>b</b>	$25,50 \pm 15,47$ <b>b</b>	$8,13 \pm 4,82 \mathbf{b}$

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

Tabla 10. Número promedio de ejemplares (Media±DE) de *Piezodorus guildinii* capturados por campaña con ambos métodos de monitoreo.

Método	n	Prot 1	Prot 2	Prot 3	Prot 4	Prot 5
Trampa Electr.	8	$1,00 \pm 1,07$ <b>a</b>	$0,00 \pm 0,00$ <b>a</b>	$0,00 \pm 0,00$ a	$1,13 \pm 1,13$ <b>a</b>	$0,50 \pm 0,76$ <b>a</b>
Paño Vertical	8	$13,38 \pm 8,86$ <b>b</b>	$8,13 \pm 6,03$ <b>b</b>	$4,50 \pm 3,59$ <b>b</b>	$21,63 \pm 11,36$ <b>b</b>	$6,13 \pm 3,80$ <b>b</b>

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

<sup>\*</sup>Referencias: Prot 1= Prototipo 1; Prot 2= Prototipo 2; Prot 3= Prototipo 3; Prot 4= Prototipo 4; Prot 5= Prototipo 5.

<sup>\*</sup>Referencias: Prot 1= Prototipo 1; Prot 2= Prototipo 2; Prot 3= Prototipo 3; Prot 4= Prototipo 4; Prot 5= Prototipo 5.

Por otro lado, a diferencia de los prototipos previos, en la superficie pegajosa se registraron numerosas capturas de otros insectos, entre ellos, dípteros, lepidópteros, himenópteros (abejas, avispas), orthópteros (langostas, grillos), coleópteros. Esto demuestra que la superficie pegajosa resultó ser el método más eficiente entre los puestos a prueba para la captura de artrópodos (sólo sensores o con dispositivo eléctrico). Además, la toma de imágenes permitió identificar a los insectos capturados y conocer las trampas que registraron las especies de interés, sin la necesidad de ir al campo para su reconocimiento (Fig. 47).

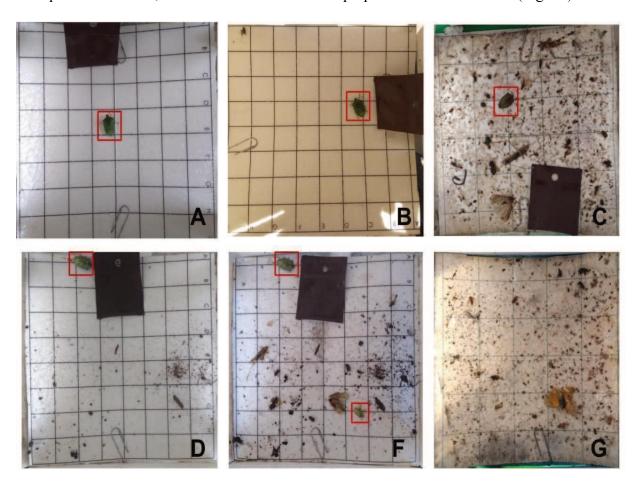


Figura 47. Fotos recibidas de las trampas automáticas (Prototipo 5). A-D) Cebo de feromona con una captura de *Nezara viridula* y otros insectos; F) Cebo de feromona con una captura de *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* y otros insectos; G) Captura de otros insectos (Fuente: elaboración propia).

Del mismo modo, si se compara el total de insectos capturados entre las campañas, se observan diferencias significativas entre el monitoreo convencional con paño vertical y el monitoreo automatizado, arrojando un p= 0,0216 y F=8,11 para *N. viridula* y un p= 0,0095 y F=11,47 para *P. guildinii* (Fig. 48).

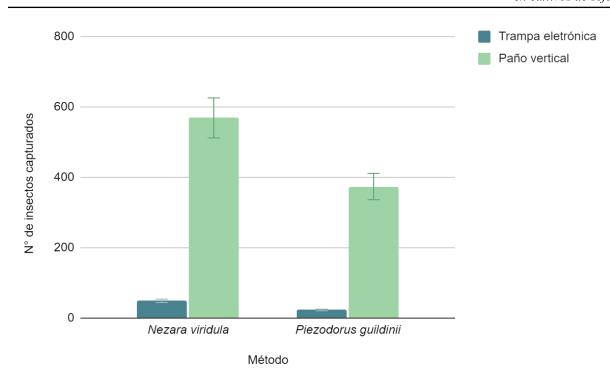


Figura 48. Comparación entre el número total de ejemplares de *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii* capturados con ambos métodos de monitoreo.

Además, la correlación que se obtuvo para ambos casos fue muy baja, obteniéndose un r= 0,71 para *N. viridula* y un r= 0,77 para *P. guildinii* (Fig. 49).

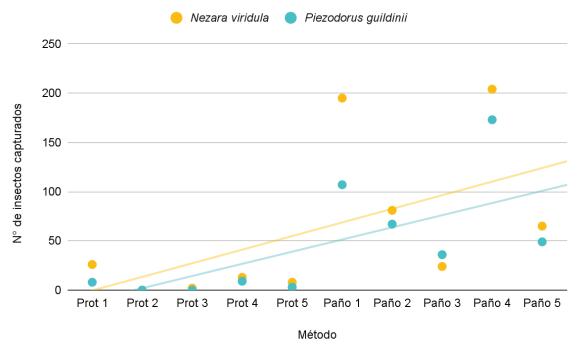


Figura 49. Gráfico de dispersión de los insectos capturados para ambos métodos de monitoreo por campaña. Se observan las líneas de correlación positivas correspondientes a cada campaña.

## 5. Discusión y Conclusiones

Los resultados muestran que las trampas electrónicas presentadas en este trabajo tienen gran potencial para la automatización de los procesos que involucran mano de obra para el monitoreo de los insectos plaga. Sin embargo, hay varias cuestiones a considerar en los próximos desarrollos, ya que se requiere el control de varios factores para que sean exitosas en las capturas. Si bien hubo campañas en las cuales las condiciones climáticas y los controladores biológicos, entre otros factores, pudieron haber condicionado las densidades de chinches halladas en los ensayos, es fundamental contar con un buen diseño de trampa para lograr tener las capturas deseadas (Ministerio de Hacienda de la Nación, 2019). En nuestros ensayos, en los Prototipos 1, 2 y 3, posiblemente las chinches que ingresaron pudieron escapar fácilmente sin pasar por los detectores infrarrojos. Esto pudo ser debido a que son insectos que se mueven mucho, por lo tanto es importante que una vez que estén dentro de la trampa les sea difícil encontrar la salida (Millar et al. 2002).

En el Prototipo 4, con el agregado del dispositivo eléctrico, pese a que los insectos fueron forzados a pasar por los sensores, no se tuvieron las capturas esperadas en relación a la densidad de plaga registrada con el paño vertical. Esto pudo ser a causa de lo documentado por Tanaka et al. (2008), Holguin et al. (2010) y Matsuda et al. (2011), quienes consideraron que los campos eléctricos generados por las partes electrónicas, pueden tener un efecto repelente sobre los insectos si no son lo suficientemente bajos. En este prototipo el voltaje del dispositivo eléctrico fue reducido para que no tenga ningún efecto negativo sobre los insectos y pueda tener la potencia necesaria como para poder neutralizarlos, aunque posiblemente tal reducción no fue suficiente para evitar el efecto de repelencia.

En cuanto al Prototipo 5, si bien el uso de superficies adhesivas para las capturas de artrópodos está ampliamente estudiado y es muy efectiva, no resultó así para los pentatómidos estudiados. Esto pudo ser debido a que se ha visto que estas chinches no son atrapadas fácilmente con pisos pegajosos, ya que cuando sus patas tocan el pegamento, se detienen y se alejan (Millar et al. 2002).

Sin embargo, y teniendo en cuenta los factores que pueden influir en el bajo número de capturas antes mencionados, se considera que la principal causa fue la falta de un atrayente efectivo para las plagas objetivo (Holguin et al. 2010). De los resultados obtenidos en este

trabajo se infiere que la única feromona sexual disponible en el mercado demostró ser ineficiente para las especies de pentatómidos presentes en la región, tanto en los ensayos en laboratorio como los realizados a campo. Esto ocasionó que en este estudio, no se logre tener el funcionamiento esperado de los cinco prototipos de trampas. Otros autores reportan resultados similares a campo, en donde observaron que las mezclas de compuestos de machos como trans- y cis- (Z) -bisaboleno epóxido, no fueron atractivas para las hembras de N. viridula (Brézot et al. 1994; Ho y Millar 2001). Ello se contrapone con lo documentado por Borges et al. (1998) y Zarbin et al. (2000), respecto a que la composición de la feromona sexual de E. heros actúa como atrayente de las especies estudiadas. Del mismo modo que en nuestras observaciones, Ho y Millar (2001) mencionaron que además de la débil atracción de las hembras hacia los cebos con compuestos sexuales de machos, las chinches eran atraídas con frecuencia a la vecindad de las trampas pero no directamente dentro de esta. Según Millar et al. (2002) estas respuestas, pueden ser debido a que como las chinches son insectos de vida relativamente larga, que se alimentan y aparean a lo largo de toda su vida, pueden responder con menos intensidad a las feromonas que especies de vida corta como los lepidópteros, ya que poseen una mayor presión para aparearse y reproducirse antes de agotar sus limitadas reservas energéticas y luego morir.

Esta hipótesis sobre la falta de un buen atrayente, también fue validada a través de los ensayos realizados por parte de nuestro equipo sobre otros insectos (datos no publicados). En este caso, las trampas de los Prototipos 4 y 5 fueron probadas en cultivos de pera y manzana para el monitoreo de Carpocapsa (*Cydia pomonella L.*) y en vid para *Lobesia botrana* (Den. y Schiff.) (Lepidoptera: Tortricidae), en donde se utilizaron feromonas sexuales específicas de ambas especies (ver Capítulo 6). Los resultados que hemos obtenido demuestran que, si bien el primer prototipo no funcionó correctamente, se pudieron observar ejemplares de carpocapsa en el interior de las trampas. Por su parte, cuando se puso a prueba el Prototipo 5 el cual se basó en la toma de imágenes, la eficiencia en las capturas aumentó significativamente para *C. pomonella*. En el caso de *L. botrana*, los resultados fueron aún más positivos, cuando el diseño de la trampa electrónica fue modificado para ser similar a las tipo Delta convencionales. Por otro lado, estudios similares realizados por Holguin et al. (2010) sobre trampas automatizadas para el monitoreo de lepidópteros en manzanas, señalan

la eficiencia de las mismas y la importancia de determinar los factores que pueden influir en las capturas (color y forma, atrayente, campos magnéticos, entre otros).

Si bien en este trabajo las trampas fueron evolucionando para lograr ser más eficientes en su nivel de detección de insectos, los resultados en cuanto a capturas de chinches no fueron los esperados debido principalmente, a la falta de un buen atrayente para las especies bajo estudio. Además, como las trampas electrónicas mostraron tener menor sensibilidad que el paño vertical en el monitoreo de chinches, se puede argumentar que la eficiencia podría aumentar y ser equivalente a la del paño vertical, colocando mayor cantidad de trampas en un mismo lote. A su vez, como no existe información suficiente de la fisiología de estos insectos y por ende, otros métodos de monitoreo, pueden surgir otros atrayentes físicos que sean más efectivos que las feromonas, como ser: sonidos, vibraciones, frecuencia de radio, etc.

En base a esto, nuestros esfuerzos para lograr los resultados esperados siguen en constante desarrollo. Continuamos trabajando en mejorar la eficiencia de las capturas en las trampas electrónicas y en la búsqueda de nuevos atrayentes para el monitoreo de chinches.

## **CAPÍTULO 5**

Hexacladia smithii (Hymenoptera: Encyrtidae) controlador biológico de pentatómidos fitófagos



TESIS DOCTORAL - LUCIANA BOLLATI

## HEXACLADIA SMITHII (HYMENOPTERA: ENCYRTIDAE) CONTROLADOR BIOLÓGICO DE PENTATÓMIDOS FITÓFAGOS

#### 1. Resumen

Se estudiaron dos aspectos de *Hexacladia smithii* (Hymenoptera: Encyrtidae): la selectividad del hospedador y la eficiencia como controlador biológico de los adultos de tres plagas potenciales de soja: *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* y *Edessa meditabunda*. Las pruebas de elección realizadas en el laboratorio mostraron que *H. smithii* tuvo una marcada preferencia sobre *N. viridula* con una tasa de infección del 90%, seguida por *P. guildinii* con el 60% y una mortalidad del 100% en el total de chinches parasitoidizadas. Sin embargo, no se observó parasitoidismo en *E. meditabunda*. Los resultados de este trabajo muestran que *H. smithii* es un potencial controlador biológico para *N. viridula* y *P. guildinii* y su posible integración con el monitoreo automatizado de estas plagas puede ser muy beneficioso para el MIP.

## 2. Introducción

Las chinches de la familia Pentatomidae (Hemiptera), son plagas importantes principalmente de cultivos como la soja, el frijol y el maíz, los cuales representan grandes superficies agrícolas. En relación al cultivo de soja (*Glycine max* L.), estos fitófagos han incrementado su densidad poblacional trayendo consigo mayores problemas económicos para la producción de esta leguminosa, debido posiblemente a la expansión de los límites agrícolas de la soja, a cambios en los sistemas productivos y al mal manejo del suelo que favorecen el establecimiento de estas especies (Gamundi y Sosa 2007; Massoni y Frana 2007; Molinari et al. 2008; Werdin González 2010; Conti et al. 2021). En la Argentina, dentro del complejo de chinches se pueden mencionar a *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula* y *Edessa meditabunda*, las cuales causan aborto de los granos, disminución en el peso de la semilla, disminución del contenido y de la calidad de aceite, afectan el poder germinativo, vigor y crecimiento de las plántulas, causan retención foliar, disminución del rendimiento, transmisión de enfermedades y podredumbre (Werdin González 2010; Socías 2019).

El uso excesivo de los pesticidas empleados para el control de estos insectos, ha generado resistencias y resurgencias de sus poblaciones, como así también daños al ambiente y a los organismos benéficos. Por consiguiente, hoy en día, debido a los residuos tóxicos que dejan los insecticidas y por su impacto sobre la fauna benéfica, los estudios han sido dirigidos a la identificación de nuevos enemigos naturales y sus interacciones con las plagas (Gamundi y Sosa 2007; Baldin et al. 2010; Perotti et al. 2010).

Los depredadores, parasitoides y entomopatógenos permiten reducir en cierta forma las poblaciones de chinches, manteniéndolas por debajo de su nivel de daño económico. Los parasitoides representan los enemigos naturales con mayor valor económico en el control de plagas, y su empleo como agentes de control ha aumentado considerablemente en los últimos años en los Programas de Manejo Integrado de Plagas (MIP). Estos insectos benéficos ocupan el segundo lugar en relación numérica a los fitófagos, representando del 10% al 20% del total de artrópodos. Un parasitoide es un organismo que vive dentro o fuera de otro (hospedador) y al tener un ciclo de vida más corto que el de la plaga, puede incrementar en poco tiempo sus poblaciones. Son insectos holometábolos, cuyos estados inmaduros (huevo, larva y pupa) son parasitoides, debido a que se desarrollan sobre o en el interior del huésped, y la larva se alimenta del cuerpo del mismo; mientras que en su fase adulta son de vida libre y nectarívoros (Gamundi y Sosa 2007; Molinari et al. 2008; Werdin González 2010; Giraudo 2019; Conti et al. 2021).

La eficiencia del parasitoide como controlador biológico depende de la capacidad para detectar al hospedador y de su impacto hacia éste. El desempeño está influenciado por la calidad de la oferta de hospedadores, así como también por la historia de vida del parasitoide, como ser la edad de la hembra al parasitoidizar. La capacidad de búsqueda y de selección de las hembras, así como el éxito reproductivo y la supervivencia, determinarán su eficiencia como agente de control. Además, un factor importante que influye en la supervivencia de estos organismos es el multiparasitoidismo, el cual implica competencia interespecífica entre las hembras o en la descendencia. Este fenómeno es ventajoso sólo en el caso en que el número de huéspedes sea bajo y la carga parasitaria sea alta (Cingolani 2012).

Por otra parte, dependiendo del estado del hospedador que es atacado y del estado del cual emerge se los clasifica en: parasitoides de huevo, huevo-larva (o ninfa), larva (o ninfa), larva-pupa, pupa, ninfa-adulto, adulto. Además, de acuerdo a la ubicación en el hospedador pueden ser ectoparasitoides o endoparasitoides; según el número de parasitoides en un hospedador se los clasifica en solitarios o gregarios; por su parte, los parasitoides que atacan

a una especie no parasítica (herbívoros y depredadores) se denominan primarios, mientras que los que atacan a otros parasitoides son llamados secundarios o hiperparasitoides. Por otro lado, de acuerdo al comportamiento que presentan durante el parasitoidismo se clasifican en koinobiontes, los cuales en el momento de la oviposición la hembra no mata al hospedador, sino que es la larva que al alimentarse de él, le ocasiona la muerte; e idiobionte, el huésped no se alimenta después de ser parasitoidizado, es decir es paralizado, por lo que el parasitoide debe alimentarse de él al momento de producirse la oviposición (Werdin González 2010).

Es considerable destacar la importancia de los parasitoides como controladores biológicos de estos fitófagos. Por ello, para favorecer la acción natural de estos insectos sobre las plagas, es fundamental respetar los umbrales de tratamiento para que puedan transcurrir sus ciclos biológicos normalmente y a su vez, utilizar productos químicos de acción selectiva (Massaro 2008; Giraudo 2019).

## 2.1. Principales parasitoides de la familia Pentatomidae

Los parasitoides son importantes reguladores de las poblaciones de insectos plaga, los cuales deben abordar varios desafíos para poder mantener sus densidades por debajo del nivel de daño económico. Entre ellos se pueden mencionar la localización, selección y captura del hospedador; por otro lado, las defensas etológicas, químicas, físicas y el sistema inmunológico de cada huésped; y por último, la utilización óptima del hospedador como recurso nutricional. Los parasitoides más conocidos y numerosos son las especies pertenecientes al orden Hymenoptera, siguiendo en importancia el orden Diptera y luego los demás órdenes con muy pocos representantes como ser Coleoptera, Trichoptera, Neuroptera (Molinari et al. 1997; Werdin González 2010; Conti et al. 2021).

Dentro de los géneros más importantes de parasitoides de chinches en soja, podemos mencionar a *Trichopoda* (Diptera: Tachinidae). Estos insectos son endoparasitoides, que atacan principalmente heterópteros de las familias Pentatomidae y Coreidae. Dentro de este género se encuentra a *Trichopoda giacomellii* (Blanchard) el cual, en la Argentina, es considerado como el principal parasitoide de adultos y ninfas de los últimos estadios de *N. viridula*, reduciendo significativamente las poblaciones y causando la muerte de estados

inmaduros, pre-reproductivos y reproductivos de este insecto (Massoni y Frana 2007; Molinari et al. 2008; Werdin González 2010).

El otro gran y principal grupo es el perteneciente al orden Hymenoptera en el cual se destaca la Familia Scelionidae. Estos artrópodos han sido utilizados como agentes biológicos en varios países para el control de estas chinches. Son endoparasitoides, oófagos, solitarios e idiobiontes de amplia distribución mundial. Sus estados preimaginales se desarrollan dentro del huevo del hospedador, siendo el adulto de vida libre y nectarívoro. Las principales especies pertenecientes a esta familia son: *Telenomus podisi* (Ashmead), *Trissolcus urichi* (Crawford) y *Trissolcus basalis* (Wollaston), los cuales atacan posturas de *P. guildinii* y también de *N. viridula* (Massoni y Frana 2007; Werdin González 2010).

Por otro lado, se encuentran los himenópteros del género *Hexacladia* (Encyrtidae) los cuales son parasitoides poco estudiados y que han sido registrados en nuestros monitoreos. Es por ello, que fueron considerados objeto de estudio de este trabajo y serán detallados a continuación.

## 2.2. Antecedentes de Hexacladia smithii Ashmead

El género *Hexacladia* (Encyrtidae) incluye a endoparásitos gregarios de heterópteros adultos y en algunos casos, también de sus ninfas de 4° y 5° estadio. Las especies de este grupo parasitoidizan principalmente a chinches de las familias Pentatomidae, Coreidae y Pyrrhocoridae.

En América del Sur se han registrado seis especies de *Hexacladia*: *H. blanchardi* De Santis (Argentina y Brasil), *H. linci* Rasplus (Perú), *H. townsendi* (Crawford) (Perú, Ecuador y Venezuela), *H. supina* Noyes (Ecuador), *H. impiros* Noyes (Ecuador y Perú) y *H. smithii* Ashmead (Argentina, Brasil, Costa Rica, México, Nicaragua, Puerto Rico, Trinidad y Tobago, Estados Unidos y Venezuela). Esta última, es la especie que presenta mayor cantidad de hospedadores y está ampliamente distribuida en el Centro y Sur de América (De Santis 1963; Cuezzo y Fidalgo 1997; Torréns et al. 2017).

Hexacladia smithii fue registrada por primera vez en la Argentina, por Cuezzo y Fidalgo (1997) sobre Antiteuchus variolosus (W) (Hemiptera: Pentatomidae). Los adultos de esta avispa miden de 1,5 a 2 mm de longitud y son de color negro, los machos tienen antenas

pectinadas y las hembras filiformes. En pentatómidos, las hembras de esta avispa depositan de 2 a 39 huevos en el interior del abdomen del hospedador. Las larvas se alimentan de las vísceras abdominales de este, luego pupan y después de 35 días, los adultos emergen perforando el tegumento del abdomen de la chinche, causando su muerte (Corrêa-Ferreira et al. 1998; Nunes y Corrêa-Ferreira 2002).

El objetivo de este trabajo fue determinar la preferencia de hospedador y eficiencia como controlador biológico de *Hexacladia smithii* sobre individuos de *Nezara viridula*, *Piezodorus guildinii* y *Edessa meditabunda* y su posible integración con el monitoreo automatizado de estas plagas.

## 3. Materiales y Métodos

Se inició la cría en laboratorio de N. viridula, P. guildinii y E. meditabunda, a partir de ejemplares adultos recolectados sobre diferentes plantas hospedadoras (malezas y cultivadas) en campos de las localidades de Rafaela y Sunchales, Santa Fe. Se las mantuvo bajo condiciones controladas de  $T^{\circ}$  27  $\pm$  3 °C, H 60  $\pm$  10 % y fotoperiodo 14 hs de luz. Se los separó por especies en jaulas de plástico de 28 x 20 x 15 cm, con el techo con malla plástica, provistas de papel absorbente en la base para la oviposición y trozos de papel como refugio. Las ninfas y adultos fueron alimentados con frutos frescos de Phaseolus vulgaris (L.), renovados cada 48 hs.

Los parasitoides se obtuvieron a partir de adultos de pentatómidos recolectados en campos de la zona, los cuales fueron colocados en cajas de Petri de 14 cm de diámetro x 2 cm de alto y alimentados con agua y miel.

Previo a realizar los ensayos, se corroboró mediante identificación taxonómica, que los parasitoides correspondían a la especie de interés. Los estudios fueron realizados por taxónomos de la División Entomología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de La Plata, La Plata, Buenos Aires. Los resultados arrojaron que los ejemplares pertenecían a *H. smithii*, coincidiendo con lo descrito por De Santis (1963) y Cuezzo y Fidalgo (1997) (Fig. 50).



Figura 50. Individuos de Hexacladia smithii. A) Ejemplar macho. B) Ejemplar hembra.

Para evaluar la preferencia de las avispas hacia sus hospedadores, se realizaron pruebas de elección, donde se colocaron en cajas de Petri dos parejas de parasitoides de la misma edad, con un individuo adulto de cada especie de chinche, durante 3 días (Fig. 51). Luego de ese tiempo, cada chinche fue colocada individualmente en un recipiente plástico de 13 x 7 x 3 cm con la tapa cubierta con tela de seda y papel absorbente humedecido en la base y alimentada cada 48 hs. Se hicieron observaciones diarias hasta la muerte del hospedador y se determinaron los individuos parasitoidizados y los no parasitoidizados. Se realizaron 10 repeticiones.

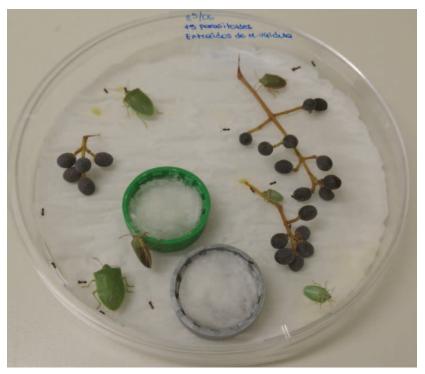


Figura 51. Ensayo de preferencia donde se observan los parasitoides y hospedadores (chinches).

Para determinar la eficiencia como controlador biológico, se estableció la carga parasitaria, el porcentaje y el tiempo de supervivencia de cada chinche parasitoidizada. La carga parasitaria se determinó mediante observación directa de los orificios de salida generados por los himenópteros adultos en el abdomen de las chinches o por disección de las mismas. En el primer caso, se contabilizaron los parasitoides adultos emergidos de cada hospedador y en el segundo caso, se registró el número y estado de desarrollo del parasitoide dentro de cada pentatómido luego de que este muriera.

El porcentaje de mortalidad se calculó mediante la cantidad de individuos parasitoidizados que murieron y el estado de desarrollo en el que se encontraba el parasitoide.

El tiempo de supervivencia de cada especie de chinche se estableció cuando, luego de finalizados los 3 días de permanencia con el parasitoide, se colocó a cada insecto por separado en el recipiente plástico y se lo observó hasta su muerte.

Paralelamente, se colocó en una caja de Petri un individuo de cada especie de chinche junto con cada ensayo como control.

Los datos obtenidos de los diferentes tratamientos fueron analizados mediante Análisis de la Varianza (ANOVA) o su equivalente no paramétrico Kruskal Wallis y mediante una prueba  $\chi 2$  (p<0,05). Además, se determinaron los porcentajes de mortalidad de cada especie parasitoidizada. Para ello, se utilizó el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo et al. 2020).

## 4. Resultados y Discusión

## 4.1. Especies parasitoidizadas vs no parasitoidizadas

Se observaron diferencias significativas en cuanto a la preferencia de hospedador de H. smithii ( $\chi^2$ =16,80; p=0,0002), lo que significa que la elección del huésped depende de la especie de chinche. Además, dentro de cada especie se analizó si existían diferencias entre individuos parasitoidizados y no parasitoidizados. En el caso de N. viridula se observaron diferencias significativas (p< 0,0001), resultando ser la especie de mayor preferencia por el parasitoide con un 90% de individuos atacados. También hubo diferencias significativas en E. meditabunda (p< 0,0001), pero en este caso no se observó presencia del parasitoide en ninguno de los insectos probados (Fig. 52). Sin embargo, este resultado no coincide con lo

documentado por Turchen et al. (2015), donde registraron en Brasil, parasitoidismo de *H. smithii* en este pentatómido.

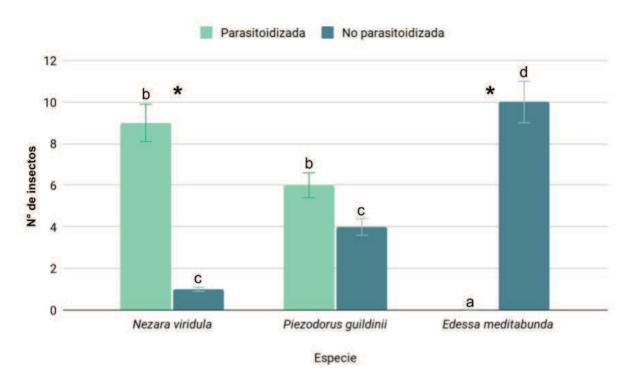


Figura 52. Número de individuos parasitoidizados y no parasitoidizados por especie de chinche. \*Letras distintas indican diferencias significativas entre especies de chinches y (\*) indica diferencias significativas entre individuos de la misma especie. Test de Tukey (α≤0.05).

Por su parte, si bien en *P. guildinii* no se encontraron diferencias significativas (p= 0,3979), de los 10 ejemplares estudiados 6 fueron atacados por *H. smithii*, resultando un parasitoidismo del 60% (Fig. 53).

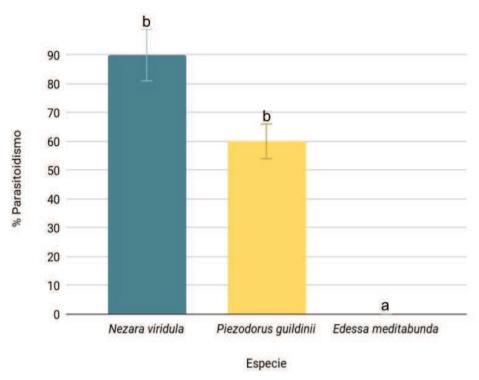


Figura 53. Porcentaje de parasitoidismo de *Hexacladia smithii* según la especie de chinche. \*Letras distintas indican diferencias significativas entre especies de chinches. Test de Tukey (α≤0.05).

Una característica muy valiosa que permitió identificar a las chinches con presencia del endoparásito antes de su muerte, es el cambio de coloración abdominal, que se observó en individuos parasitoidizados de *P. guildinii* y *N. viridula* (Fig. 54). Este cambio de coloración también fue registrado por Panizzi y Silva (2010) en adultos de *Arvelius albopunctatus* (De Geer) parasitoidizados por *H. smithii* en Brasil.



Figura 54. Ejemplar de *Piezodorus guildinii* donde se observa cambio de coloración abdominal por parasitoidismo de *Hexacladia smithii*.

## 4.2. Carga parasitaria por individuo y especie

La carga parasitaria se definió mediante la observación de orificios ventrales en las chinches y/o por el número de individuos del himenóptero en el interior. En las disecciones realizadas de ambas especies afectadas, se encontraron por chinche, entre 20 y 30 parasitoides en diferentes estados de desarrollo (larvas o pupas: 54,5% y adultos: 45,5%) (Fig. 55). Estos datos coinciden con lo documentado por Panizzi y da Silva (2010) en el Sur de Brasil.

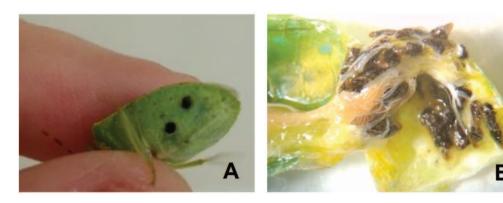


Figura 55. A) Orificios de salida del himenóptero adulto. B) Disección de chinche donde se observan las pupas del parasitoide.

## 4.3. Porcentaje de mortalidad

Con respecto a la mortalidad, se registró que *H. smithii* causó en las chinches parasitoidizadas una mortalidad del 100%, tanto en *P. guildinii* como en *N. viridula*. Se observó que 45,5% murió cuando el parasitoide emergió como adulto, mientras que el 54,5% restante, murió cuando el parasitoide aún se encontraba en estados inmaduros de desarrollo (larva o pupa) (Fig. 55B).

## 4.4. Tiempo de supervivencia en parasitoidosis

Tanto *N. viridula* como *P. guildinii*, murieron a los 25-30 días después de ser parasitoidizadas. Estos resultados fueron consistentes con los encontrados por Nunes y Corrêa-Ferreira (2002), cuando se realizaron pruebas de desempeño alimenticio y sobrevivencia en individuos de *Euschistus heros* parasitoidizados por el mismo himenóptero.

#### 5. Conclusiones

Se concluye que *H. smithii* tiene mayor preferencia por *N. viridula*, seguida de *P. guildinii*, no eligiendo en ninguno de los casos a *E. meditabunda*. El parasitoidismo de este himenóptero reduce la longevidad de adultos de ambas especies de chinches afectadas, causando 100% de mortalidad entre los 25 y 30 días después de ser atacadas. Estos resultados destacan a *H. smithii* como potencial controlador biológico pudiendo ser considerado en los Programas de MIP y su integración con el monitoreo automatizado de *N. viridula* y *P. guildinii*. Por ello, es fundamental destacar la importancia que tienen los estudios de cría en laboratorio de estos parasitoides y luego su liberación a campo como agentes de Control Biológico. En los próximos años, se debería profundizar el conocimiento sobre las técnicas más adecuadas para la cría y el sostenimiento de grandes poblaciones en laboratorio y del estado fenológico del cultivo más apropiado para la liberación y, así lograr la conservación de estos organismos en condiciones naturales.

## **CAPÍTULO 6**

Eficiencia de las trampas electrónicas para el monitoreo de otros insectos plaga: Lepidópteros



TESIS DOCTORAL - LUCIANA BOLLATI

# EFICIENCIA DE LAS TRAMPAS ELECTRÓNICAS PARA EL MONITOREO DE OTROS INSECTOS PLAGA: LEPIDÓPTEROS

#### 1. Resumen

El seguimiento de los insectos plagas en cultivos intensivos requiere de numerosa mano de obra. Actualmente el monitoreo automatizado es una de las herramientas más utilizadas en todo el mundo, permitiendo predecir y prevenir con mayor precisión la presencia de plagas en el campo. En este estudio se planteó como objetivo determinar la eficiencia de trampas electrónicas para el monitoreo de Cydia pomonella en cultivos de pera y manzana y de Lobesia botrana en vid. Se llevaron a cabo tres ensayos en Río Negro, Argentina en cultivos de pera y manzana en las temporadas 2018/19 y 2019/20, para probar la eficiencia de las trampas basadas en sensores infrarrojos (IR) y en la toma de imágenes, para el monitoreo de C. pomonella. Se comparó el número de polillas capturadas en las trampas electrónicas y las trampas convencionales. Los datos analizados demostraron que, en las pruebas con detección mediante sensores IR, no se obtuvieron los resultados deseados; por el contrario, cuando el monitoreo fue a través de la toma de imágenes, no se encontraron diferencias significativas entre las trampas electrónicas y las convencionales. Del mismo modo, se probó su eficiencia en cultivos de vid en Mendoza, en la temporada 2020/21, para el monitoreo de L. botrana, en cuyo caso el monitoreo automatizado demostró ser aún más prometedor para el seguimiento de estos insectos plaga. De esta manera, se pudieron demostrar las ventajas de la automatización, por lo que se continuará trabajando para eficientizar la detección a través de esta tecnología, para brindar grandes beneficios al productor.

## 2. Introducción

El seguimiento de los insectos se basa en la colocación de trampas distribuidas uniformemente en los lotes, las cuales son controladas por operadores humanos periódicamente, dependiendo la época del año. Esto requiere un alto costo de mano de obra y los datos proporcionados no son en tiempo real, generando que el monitoreo resulte ineficiente y dificultando la toma de medidas adecuadas para el tratamiento de cada plaga (Holguin et al. 2010; Guarnieri et al. 2011; Kim et al. 2011; Sciarretta y Calabrese 2019; Rustia et al. 2020; Bilal et al. 2021; Preti et al. 2021; Suárez et al. 2021).

Actualmente, el monitoreo automatizado de plagas es una de las herramientas más utilizadas en todo el mundo, principalmente en cultivos intensivos. Como se mencionó en varios capítulos de esta tesis, la adopción de sistemas de monitoreo de plagas en tiempo real, permiten medir las poblaciones de insectos de manera constante, con mínima mano de obra y limitando las visitas al campo. El uso de trampas automáticas que toman imágenes de las capturas de los insectos y la transferencia de datos en forma inalámbrica, permiten predecir y prevenir la aparición de brotes de plagas en forma eficiente (Holguin et al. 2010; Guarnieri et al. 2011; Sciarretta y Calabrese 2019; Lima et al. 2020; Rustia et al. 2020; Bilal et al. 2021; Preti et al. 2021; Suárez et al. 2021).

En la Argentina existen plagas que se encuentran bajo control oficial, por su importancia económica potencial y los efectos negativos que ocasionan sobre los cultivos que atacan. Para delimitar su área de dispersión, determinar los momentos oportunos de control y establecer Protocolos de Exportación, es obligatorio por ley, su control por parte de los productores y el Estado Nacional (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina, 2022b, 2022c; SENASA 2021a, 2021b). Dentro de las plagas de mayor importancia económica en frutales se encuentran: la "Carpocapsa" o "Gusano de la pera y la manzana", *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae), considerada la principal plaga de las frutas de pepita del mundo, y la "Polilla de la vid" *Lobesia botrana* (Den. y Schiff.) (Lepidoptera: Tortricidae), que ataca principalmente el cultivo de vid (Fig. 56) (SENASA 2021a, 2021b).





Figura 56. Lepidópteros plaga. A) Adulto de *Cydia pomonella* (carpocapsa). B) Adulto de *Lobesia botrana* (Fuente: Wikimedia Commons y Flickr)

En la Argentina, la carpocapsa, si bien tiene una amplia distribución, se encuentra principalmente en las regiones del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, las cuales presentan condiciones climáticas favorables para el desarrollo de cultivos de manzana (Malus domestica B.) y peras (Pyrus communis L.). Estas provincias producen el 80% y 90% respectivamente de las manzanas y peras de nuestro país. Esta plaga no sólo incide sobre la economía regional afectando la cantidad y calidad de la producción, sino también limita el acceso a los mercados. Desde el año 2004 se lleva a cabo el Programa Nacional de Supresión de Carpocapsa (PNSC), con el objetivo de controlar y mantener la plaga por debajo del umbral económico mediante el empleo de técnicas ambientalmente sustentables, como ser las Técnica de Confusión Sexual (TCS) y trampas con feromonas sexuales (Cichón y Fernández 2001; Cichón 2004; Fernández 2012; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina, 2022b; Soleño et al. 2019; SENASA 2021a). Por su parte, L. botrana se distribuye principalmente en Mendoza y San Luis, afectando gravemente la vitivinicultura argentina. La misma es considerada plaga cuarentenaria por su rápida dispersión en el país, por las pérdidas de producción que genera y el aumento en los costos para las exportaciones. Para su control, es necesaria la vigilancia fitosanitaria a través de la instalación de una Red de Trampeo Oficial, mediante trampas con feromonas. Estas se encuentran distribuidas siguiendo una cuadrícula preestablecida por SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria), cubriendo todo el territorio nacional (Dagatti y Becerra 2015; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina, 2022c; SENASA 2021b). Para el seguimiento de sus poblaciones se utilizan trampas, generalmente de tipo Delta, las cuales presentan un piso pegajoso en donde quedan adheridos los insectos y en donde se coloca el cebo con feromona para la atracción de los adultos (Fig. 57). Mediante el uso de estas trampas se puede determinar los NDE, expresados en número de adultos capturados por semana o en capturas acumuladas a partir de un evento de su ciclo biológico (ejemplo: 1° generación de adultos) (Cichón 2004; Fernández et al. 2010; Guarnieri et al. 2011; Fernández 2012; Dagatti y Becerra 2015; Bado, 2018; Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina, 2022b, 2022c; SENASA 2021b).





Figura 57. Trampa Delta. A) Estructura de la trampa Delta. B) Interior de una trampa Delta con un cebo combinado ubicado en el piso adhesivo (Fuente: elaboración propia).

En base a esto, se planteó como objetivo del siguiente trabajo determinar la eficiencia de trampas electrónicas para el monitoreo de *Cydia pomonella* en cultivos de pera y manzana y de *Lobesia botrana* en vid.

## 3. Materiales y Métodos

## 3.1. Ensayos comparativos con trampas electrónicas para el monitoreo de Carpocapsa

Se llevaron a cabo tres ensayos en dos campañas consecutivas (2018/19 y 2019/20) mediante un diseño completamente aleatorizado:

Ensayo 1: Fue realizado en General Roca, provincia de Río Negro, Argentina en cultivos de pera y manzana, para el cual se seleccionaron parcelas de la Chacra 1 (38.993045 S, 67.853121 O) con 118.610,56 m² de superficie cultivada. Los adultos de carpocapsa se monitorearon desde noviembre de 2018 hasta marzo de 2019. Para ello, se instalaron seis trampas electrónicas (TE) del Prototipo 4 (detalle en Capítulo 2), el cual se basó en un dispositivo eléctrico con varillas metálicas para neutralizar a los insectos y forzarlos a pasar por los sensores infrarrojos, y seis trampas Delta (TD) como tratamiento Testigo (Fig. 58). En ambos casos, se utilizó como atrayente cebos Combo 3X de carpocapsa (3 mg codlemona+3 mg éster de pera) (Trécé Inc.) para la captura de adultos de ambos sexos.



Figura 58. A) Trampa Delta. B) Trampa electrónica Prototipo 4. C) Instalación de trampa Delta en árbol de manzana. D) Instalación de trampa electrónica en árbol de manzana (Fuente: elaboración propia)

La chacra seleccionada se dividió en 6 parcelas de una hectárea y en cada una se instaló una TE y una TD a 2 m de altura aproximadamente y 50 m de separación entre ellas (Fig. 59). Ambas fueron revisadas con frecuencia semanal, en donde se contabilizaron e identificaron los insectos caídos. Las capturas en las TE, luego fueron comparadas con las registradas a través de los conteos automáticos recibidos en la computadora. Además, se reemplazaron las feromonas cada 45 días y los pisos de cada trampa cuando se encontraban muy sucios o con abundantes capturas, que impedían la correcta adherencia de los insectos.



Figura 59 Ubicación de las trampas en la Chacra 1 (Fuente: mapa Google Earth Pro) \*Referencias: TE (marcas rosas): trampa electrónica; TD (marcas celestes): trampa Delta.

Ensayo 2 y 3: Ambos ensayos fueron efectuados en General Roca, Río Negro, Argentina, en cultivos de pera y manzana, desde septiembre, recién iniciado el ciclo biológico de carpocapsa, hasta diciembre de 2019. El Ensayo 2 fue realizado en la Chacra 1, mientras que para el Ensayo 3 se seleccionaron parcelas en otra chacra (Chacra 2) (39.077494 S, 67.589760 O), con una superficie cultivada de 236.548,35 m² (Fig. 60). Para ello, se instalaron seis trampas electrónicas (TE) del Prototipo 5 (detalle en Capítulo 2), el cual consistió en la toma de imágenes de la superficie pegajosa, y seis trampas Delta (TD) como tratamiento Testigo (Fig. 61). En ambos casos, se utilizó como atrayente cebos Combo 3X de carpocapsa (3 mg codlemona+3 mg éster de pera) (Trécé Inc.)

En cada chacra la superficie asignada fue fraccionada en 6 parcelas de una hectárea y en cada una se instaló una TE y una TD a 2 m de altura y 50 m de separación entre ambas. Las TD fueron revisadas con frecuencia semanal y en cada oportunidad se contabilizaron e identificaron los insectos capturados sobre la superficie pegajosa, mientras que los insectos atrapados en las TE fueron registrados a través de las imágenes que llegaban automáticamente a la computadora desde el servidor. Las feromonas fueron reemplazadas cada 45 días y los pisos cuando estaban sucios o con abundantes insectos.



Figura 60. Ubicación de las trampas en los lotes seleccionados. A) Chacra 1. B) Chacra 2. \*Referencias: TE (marcas rosas): trampa electrónica; TD (marcas celestes): trampa Delta.



Figura 61. A) Trampa electrónica Prototipo 5. B) Cambio de piso adhesivo de trampa electrónica instalada en árbol de manzana. C) Trampa electrónica instalada en Chacra 1. D) Trampa electrónica instalada en Chacra 2 (Fuente: elaboración propia)

## 3.2. Ensayos comparativos con trampas electrónicas para el monitoreo de *Lobesia* botrana

El ensayo se realizó en Mendoza, Argentina en colaboración con SENASA en la campaña 2020/21. Esta institución cuenta con "estaciones de monitoreo" (EM) implementadas en la provincia, en donde se realiza el seguimiento de *L. botrana*, tanto de adultos en trampas, como de los estadios inmaduros, que junto con otras variables (clima, estados fenológicos del cultivo), permiten establecer los momentos oportunos para su control fitosanitario. Cada estación comprende diez sitios de monitoreo donde se realiza el seguimiento de la plaga a través del empleo de trampas Delta. Cada sitio cuenta con tres trampas cebadas con feromonas sexuales para la captura de los machos de esta especie y separadas a 50 m entre sí, formando un triángulo equilátero (Fig.62).

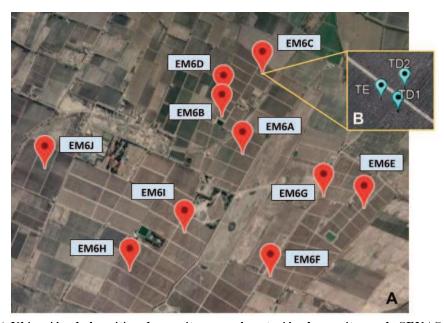


Figura 62. A) Ubicación de los sitios de monitoreo en la estación de monitoreo de SENASA en Tunuyán, Mendoza. B) Detalle esquemático de la distribución de las trampas en cada sitio de monitoreo. \*Referencias: EM6: Estación de Monitoreo N°6 (Tunuyán); A,B,C...X: identificación de cada sitio de monitoreo.

El ensayo incorporando trampas electrónicas fue realizado en Tunuyán, en el Valle de Uco, la cual es una zona que posee abundante presencia de *L. botrana*. Para ello, se utilizaron TE-del Prototipo 5 basada en la toma de imágenes (descrita en el Capítulo 2), pero a la que se le modificó la estructura de plástico corrugado para que sea similar a una tipo Delta (Fig.63). Se instaló una trampa electrónica en cada sitio de monitoreo, reemplazando a una de las TD,

para poder comparar la información registrada con las otras dos convencionales del mismo lugar. El personal de SENASA, fue el responsable de la revisión, la cual fue con una frecuencia bisemanal, semanal o quincenal dependiendo la época del año y también se ocupó del cambio de feromonas cada 30 días y del piso cuando estaba muy sucio o con abundantes insectos. Las imágenes recibidas de las trampas automáticas fueron analizadas por nuestro equipo.



Figura 63. A) Detalle de la estructura de la trampa electrónica similar a una tipo Delta. B) Trampa electrónica instalada en cultivo de vid. C) Trampa Delta en cultivo de vid.

#### Análisis estadísticos

Los datos obtenidos de los ensayos fueron analizados mediante ANOVA o su equivalente no paramétrico Kruskal Wallis (α≤0.05). Cuando se encontraron diferencias significativas, se realizaron sus respectivas comparaciones utilizando una prueba de Tukey. Para comparar los tratamientos (TE y TD) entre sí se realizó un Test T para muestras independientes, mientras que para su comparación dentro de una misma parcela, se utilizó un Test T apareado. En todos los casos se trabajó con un nivel de significancia del 5%. Para ello, se empleó el programa estadístico InfoStat 2020 (Di Rienzo et al. 2020).

#### 4. Resultados

#### 4.1. Ensayos con carpocapsa, plaga de la manzana y la pera

#### Ensayo 1:

En el Ensayo 1 hubo problemas con la detección automática, ya que si bien se registraron capturas de carpocapsa en varias trampas, se observaron numerosos falsos positivos (Fig. 64). Esto fue debido a que las hojas de los árboles de manzana hacían contacto con el dispositivo eléctrico y se contabilizaba como una captura. Además, en algunas trampas se encontraron nidos de pájaros con sus pichones, los que también hacían activar la detección. Por lo tanto, no se pudo comparar la eficiencia de las TE respecto a las TD, por lo que estos resultados no fueron tenidos en cuenta en los análisis.

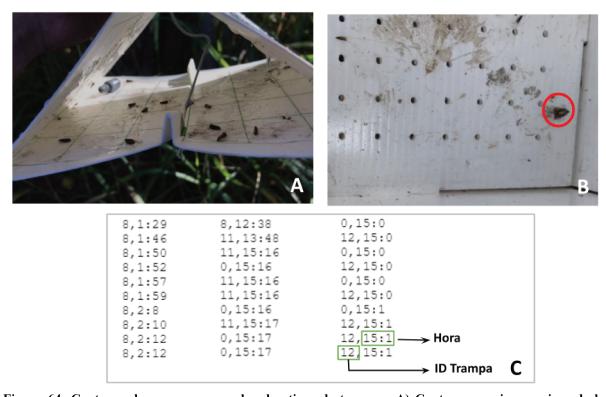


Figura 64. Capturas de carpocapsa en los dos tipos de trampas. A) Capturas en piso pegajoso de la trampa Delta. B) Captura (círculo rojo) en el piso de la trampa electrónica. C) Detecciones visualizadas en una computadora donde se observan los falsos positivos.

#### Ensayo 2:

La Chacra 1 presentó de baja a moderada presión de plaga durante el ensayo (Fig. 65), registrándose 117 capturas totales en las TD y 53 en las TE, existiendo diferencias

significativas entre los tratamientos (T=3,64; p=0,0005) (Tabla 11). Los valores promedio de capturas en cada trampa fueron mayores en las TD con 2,44 polillas, con respecto a las TE con una media de 1,10 insectos por trampa.

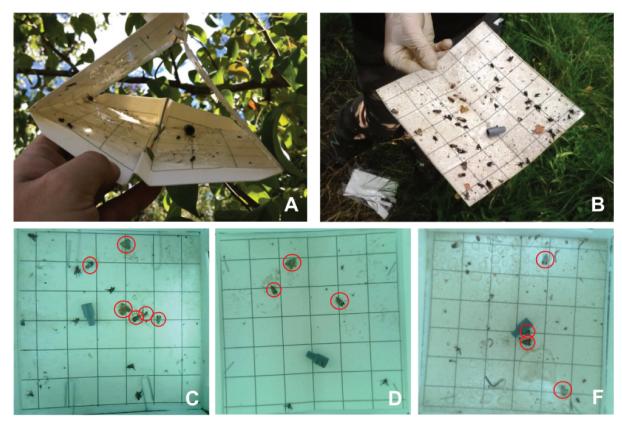


Figura 65. Capturas de carpocapsa en los dos tipos de trampas. A) Capturas en piso pegajoso de la trampa Delta. B) Capturas en superficie pegajosa de la trampa electrónica. C, D y E) Imágenes de las capturas (círculo rojo) tomadas por la cámara de las trampas electrónicas (Prototipo 5) en Chacra 1.

Tabla 11. Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de *Cydia pomonella* capturados durante el ensayo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 1.

Método	n	Promedio de adultos capturados
TE	48	$1,10 \pm 1,23$ <b>a</b>
TD	49	$2,44 \pm 2,15 \mathbf{b}$

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey ( $\alpha \le 0.05$ ).

A nivel de parcela, se observaron diferencias significativas entre ellas a pesar que se consideraron todas con la misma densidad de plaga, lo que indica que el número de capturas total en cada una fue diferente a lo largo del ensayo (H=19,92; p=0,0322) (Tablas 12). Se observa que el número promedio de insectos capturados, fue siempre mayor en las TD versus las TE, superando en todos los casos el doble de individuos atrapados. Sin embargo, si comparamos los métodos empleados (TD y TE) dentro de una misma parcela, se observan diferencias significativas en la Parcela 1 con 0,88 insectos en promedio capturados en las TE y 2,25 en las TD (T= 3,54; p= 0,0095), en la Parcela 3 con 1,38 polillas en promedio atrapadas en las TE y 2,75 adultos por trampa en las TD (T= 2,99; p= 0,0203) y en la Parcela 6 con 0,63 insectos por trampa en las TE y 1,38 ejemplares en promedio en las TD (T= 2,39; p= 0,0481) (Tabla 12).

Tabla 12. Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de *Cydia pomonella* capturados en cada parcela con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 1.

Método	Parcela 1	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 4	Parcela 5	Parcela 6
TE	0,88 ± 0,99 <b>ab</b> *	$1,75 \pm 1,75$ <b>ab</b>	$1,38 \pm 0,52$ <b>ab*</b>	$1,11 \pm 1,54$ <b>ab</b>	$0,88 \pm 1,46 \text{ ab}$	$0,63 \pm 0,52$ <b>a*</b>
TD	$2,25 \pm 1,58 \text{ ab}$	$3,63 \pm 3,07$ <b>b</b>	$2,75 \pm 1,28 \text{ ab}$	$2,50 \pm 3,12$ <b>ab</b>	$2,13 \pm 2,10$ <b>ab</b>	$1,38 \pm 0,52 \text{ ab}$

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey ( $\alpha \le 0.05$ ). Asterisco (\*) en la misma columna indica diferencias significativas entre métodos dentro de una misma parcela. Test T apareado ( $\alpha \le 0.05$ ).

#### Ensayo 3:

En la Chacra 2 hubo problemas técnicos con la TE1, por lo tanto la parcela donde fue ubicada (Parcela 1) no se tuvo en cuenta en el análisis de datos. Se pudo observar de baja a moderada presión de plaga durante todo el experimento, con un total de 157 capturas totales en las TD y 85 en las TE (Fig. 66), mostrando diferencias significativas entre los tratamientos con una captura media por trampa en las TE de 2,43 adultos, mientras que en las TD el valor promedio fue de 4,49 insectos (T=2,09; p=0,0415) (Tabla 13), superando también en este caso el doble de capturas, con respecto a las TE.

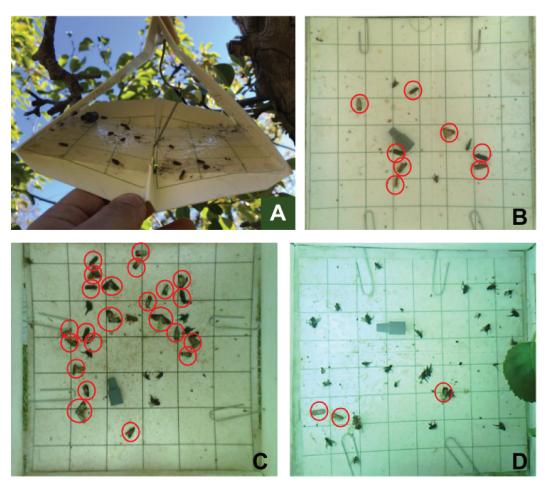


Figura 66. Capturas de carpocapsa en los dos tipos de trampas. A) Capturas en piso pegajoso de la trampa Delta. B, C y D) Imágenes de las capturas (círculo rojo) tomadas por la cámara de las trampas electrónicas (Prototipo 5) en Chacra 2.

Tabla 13. Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de *Cydia pomonella* capturados a lo largo del ensayo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 2.

Tipo de monitoreo	n	Promedio de adultos capturados
TE	35	$2,43 \pm 3,03$ a
TD	35	4,49 ± 4,63 <b>b</b>

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

Se observaron diferencias significativas entre las parcelas ensayadas respecto a la cantidad promedio de insectos capturados con un H=34,02 y un p=0,001. Por otro lado, si comparamos entre métodos (TD y TE) dentro de una misma parcela, existen diferencias estadísticamente significativas en la Parcela 2 con 7,71 para TD y 3,29 para TE de adultos

atrapados en promedio por trampa (T= 2,92; p= 0,0265), en la Parcela 3 con 9,57 insectos en promedio para las TD y 5,14 para las TE (T= 2,72; p= 0,0349) y en la Parcela 4, en que los valores fueron de 1,86 y 0,43 para ambas trampas, respectivamente (T= 3,77; p= 0,0093) (Tabla 14). En las restantes parcelas monitoreadas, no se hallaron diferencias en los métodos de captura empleados.

Tabla 14. Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de *Cydia pomonella* capturados en cada parcela en trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD) en Chacra 2.

Tipo de monitoreo	Parcela 2	Parcela 3	Parcela 4	Parcela 5	Parcela 6
TE	3,29 ± 3,99 <b>abc*</b>	5,14 ± 3,98 <b>bcd*</b>	$0,43 \pm 0,53$ <b>a*</b>	$2,\!29 \pm 1,\!60$ ab	$1,00 \pm 1,00 \; \mathbf{ab}$
TD	$7,71 \pm 3,45$ <b>cd</b>	$9,57 \pm 6,16 $ <b>d</b>	$1,86 \pm 0,90 \text{ a}$ <b>b</b>	$1,43 \pm 0,53$ <b>ab</b>	$1,86 \pm 1,07 \text{ ab}$

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey ( $\alpha \le 0.05$ )
Asterisco (\*) en la misma columna indica diferencias significativas entre métodos dentro de una misma parcela. Test T apareado ( $\alpha \le 0.05$ ).

#### 4.2. Ensayos con Lobesia botrana, plaga de la vid

A partir de los resultados obtenidos se puede observar que existen diferencias significativas en cuanto a la cantidad de machos de *L. botrana* totales capturados en cada sitio de monitoreo, siendo su p=0,0003 y su H=30,67 (Tabla 15). Las mayores capturas se observan en los sitios EM6A y EM6J con un promedio de 21,27 y 29,67 machos por trampa respectivamente, seguido de EM6C, EM6D, EM6H y EM6I, con un valor medio de 13,38; 14; 12,81 y 18,46 adultos, respectivamente.

Tabla 15. Número promedio de ejemplares (Media±DE) de *Lobesia botrana* capturados en cada sitio de monitoreo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD).

Sitio	n	Promedio de adultos capturados
EM6A	26	$21,27 \pm 22,63$ <b>e</b>
EM6B	26	$8,62 \pm 8,93 \text{ abcd}$
EM6C	26	$13,38 \pm 25,10$ abc
EM6D	33	$14,00 \pm 12,68$ <b>de</b>

EM6E	20	$5,95 \pm 4,33 \text{ abc}$
EM6F	25	$6,60 \pm 4,49 \text{ ab}$
EM6G	26	$4,27 \pm 3,45$ <b>a</b>
EM6H	27	$12,81 \pm 12,48$ <b>bcde</b>
EM6I	24	$18,46 \pm 16,73$ <b>e</b>
EM6J	30	29,67 ± 43,66 <b>cde</b>

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

Si bien existen diferencias estadísticamente significativas en el número promedio de polillas capturadas en las trampas entre sitios de la misma estación de monitoreo (EM6) (p=0,0232 y H=45,89), no se observan diferencias entre las capturas obtenidas entre la TD1, TD2 y la TE de un mismo sitio de monitoreo (Tabla 16). Esto demuestra que el monitoreo automatizado resultó ser eficiente para el seguimiento de *L. botrana* en vid.

Tabla 16. Número promedio de ejemplares por trampa (Media±DE) de *Lobesia botrana* capturados en cada sitio de monitoreo con trampas electrónicas (TE) y trampas Delta (TD).

G. (	Tipo de monitoreo			
Sitio	TE	TD 1	TD 2	
EM6A	$19,13 \pm 17,13$ <b>cde</b>	$13 \pm 13,03$ <b>bcde</b>	31,44 ± 31,24 <b>e</b>	
ЕМ6В	$6,25 \pm 8,33$ ab	$10,78 \pm 10,24$ abcde	$8,56 \pm 8,53$ abcde	
EM6C	$15,44 \pm 34,17$ <b>abc</b>	$11,67 \pm 18,45$ abcde	$13,00 \pm 22,73$ abcde	
EM6D	$17,36 \pm 15,86$ bcde	$16,36 \pm 12,41$ <b>de</b>	$8,27 \pm 7,35$ abcde	
EM6E	5,17 ± 2,86 abcd	$6,29 \pm 5,71$ abcd	6,29 ± 4,39 <b>abcde</b>	
EM6F	$5,22 \pm 5,36$ <b>ab</b>	$5,60 \pm 4,43$ abcd	6,17 ± 3,87 <b>abcde</b>	
EM6G	$3,30 \pm 3,95$ <b>a</b>	$4,50 \pm 2,51$ abc	$5,25 \pm 3,69$ abc	
ЕМ6Н	$9,33 \pm 12,23$ abcd	$11,78 \pm 9,65$ <b>bcde</b>	$17,33 \pm 15,02 $ <b>de</b>	
EM6I	$12,63 \pm 14,49$ abcde	$21,13 \pm 18,69$ <b>de</b>	$21,63 \pm 17,37$ <b>e</b>	
EM6J	$26,40 \pm 40,02$ abcde	$30,30 \pm 39,79$ cde	$32,30 \pm 54,21$ <b>bcde</b>	

<sup>\*</sup>Medias con letras iguales no tienen diferencia significativa entre sí. Test de Tukey (α≤0.05).

<sup>\*</sup>Referencias: EM6: Estación de Monitoreo N°6 (Tunuyán); A,B,C...X: identificación de cada sitio de monitoreo.

<sup>\*</sup>Referencias: EM6: Estación de Monitoreo N°6 (Tunuyán); A,B,C...X: identificación de cada sitio de monitoreo.

#### 5. Discusión y Conclusiones

Los resultados obtenidos de los ensayos realizados en campos de pera, manzana y vid demostraron que las trampas desarrolladas tienen potencial para automatizar los monitoreos manuales, disminuyendo la mano de obra intensiva. Sin embargo, deben tenerse en cuenta varias cuestiones como ser el sistema de detección y el diseño de la trampa.

En el Ensayo 1, en cultivos de pera y manzana, se vio que los sensores utilizados causaban falsas detecciones, por lo que el conteo de los insectos no fue el correcto. Esto también fue documentado por Holguin et al (2010) para *C. pomonella* y por Kim et al. (2011), para el monitoreo de *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), en donde ambos autores advirtieron detecciones que no eran precisas debido a la caída de otros artrópodos o por insectos que atravesaban numerosas veces los haces infrarrojos de los sensores. Además, el número de insectos que se registraron en las TE fue menor que el obtenido en las trampas convencionales.

Por otro lado, los campos magnéticos generados por el dispositivo eléctrico implementado para forzar a los insectos a pasar por los sensores, podrían haber causado la repelencia de la plaga. Estudios previos han reportado este mismo inconveniente, generando una menor tasa de capturas en las trampas electrónicas (Tanaka et al., 2008; Holguin et al., 2010; Matsuda et al., 2011). Además, el diseño de la trampa tampoco permitió que las polillas sean atrapadas y contabilizadas adecuadamente. Según lo reportado por Guarnieri et al. (2011), uno de los factores que afecta principalmente la eficiencia de la trampa es la forma que presenta, ya que de ella depende que un mayor número de insectos puedan ingresar sin verse limitados o no pueda escapar fácilmente.

Por su parte, en los Ensayos 2 y 3, el sistema de detección fue más apropiado, ya que, a través de la toma de imágenes, se pudo realizar un seguimiento de la plaga más preciso, pudiendo obtener un registro diario de las caídas de las polillas a las trampas. Además, la ventaja de esta tecnología, a diferencia de los sensores IR en donde sólo contabilizan la presencia de la plaga pero no puede identificarla, es que la imagen permite al operario poder verificar directamente si la cantidad y tipo de insectos son los correctos (Lima et al. 2020; Preti et al. 2021; Suárez et al. 2021). A su vez, si bien hubo ciertas diferencias respecto a las tasas de capturas totales de carpocapsa entre las TE y las TD, siendo en estas últimas mayores, se pudo observar que entre trampas dentro de una misma parcela estas diferencias

no existieron. Estos resultados coinciden con lo documentado por Guarnieri et al. (2011), en donde comparó a trampas electrónicas que tomaban fotos con trampas comerciales, en cultivos de pera y manzana para el monitoreo de *C. pomonella*.

En relación al ensayo realizado en cultivos de vid, se pudo observar que entre las tres trampas ubicadas en el mismo sitio de monitoreo no existieron diferencias significativas, por lo tanto se corroboró la eficiencia de las trampas automatizadas. La semejanza en el número de insectos capturados entre estas, a diferencia de los ensayos en cultivos de pera y manzana, pudo ser debido al diseño de la trampa electrónica, ya que era muy similar a las convencionales. De ello se desprende, la importancia de la elección de un buen diseño de trampa, que permita el fácil ingreso de los insectos, pero evitando su escape, para ser contabilizados adecuadamente.

Las diferencias que se encontraron entre parcelas o sitios de monitoreo en los ensayos realizados, pudo deberse a varios factores como la densidad de la población de los insectos, la relación de sexos, la edad de los individuos y las condiciones meteorológicas como la temperatura, el viento y la lluvia. Además, se ha documentado que los insectos en general, presentan una distribución espacial heterogénea, en su mayoría agregada, por lo que los estudios de distribución espacial se realizan a nivel de parcela, lo que explica las diferencias observadas dentro de una misma área de estudio (Fernández 2012; Heit et al., 2013).

Si bien los resultados alcanzados con lepidópteros fueron más prometedores que los obtenidos con chinches, nuestra investigación continuará para lograr la eficiencia esperada en el monitoreo automatizado y que sea una herramienta de gran valor para los Programas de Manejo Integrado de Plagas.

### **CONCLUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS**

A partir de los resultados obtenidos en esta tesis se pudo demostrar que, si bien se continúa trabajando para optimizar el funcionamiento de las trampas electrónicas, la automatización en operaciones que involucran cuantiosa mano de obra es una ventaja relevante para el productor. Asimismo, se resalta la importancia en la elección de un buen atrayente que sea específico del insecto objetivo y que permita realizar un correcto seguimiento del mismo. Esto se pudo corroborar con los ensayos realizados en lepidópteros, en donde se obtuvieron resultados positivos en comparación con los registrados con chinches en soja. A su vez, se comprobó que el diseño de la trampa y el método para la detección, en este caso el basado en la toma de imágenes, son sustanciales para lograr un monitoreo eficiente y permitir realizar una elección precisa de los momentos más adecuados para la aplicación de insecticidas, optimizando el control de estos fitófagos.

Adicionalmente, los estudios sobre parasitoides son de suma importancia para el control de las poblaciones de insectos plaga. Los resultados que obtuvimos en los ensayos realizados sobre *H. smithii* como controlador biológico de las especies de chinches estudiadas, abren nuevas oportunidades para integrarlos a los métodos de detección automática. Ambos estudios tienen gran potencial para ser incorporados en los Programas de Manejo Integrado de Plagas.

Nuestras investigaciones sobre la automatización en el monitoreo de insectos plaga y en la búsqueda de nuevos métodos que permitan la preservación de los ecosistemas continúan. Actualmente, estamos explorando nuevas tecnologías para incorporarlas en nuestros desarrollos, con el objetivo de lograr mejoras en la precisión de las detecciones, pudiendo brindar una solución integral que genere beneficios económicos al productor y a su vez, proporcionando herramientas que logren disminuir los daños al medioambiente.

## Bibliografía

- Aldrich JR, Oliver JE, Lusby WR, Kochansky JP, Lockwood JA. 1987. Pheromone strains of the cosmopolitan pest, *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). J Exp Zool, 244(1):171-175. DOI: https://doi.org/10.1002/jez.1402440121
- Aldrich JR, Numata H, Borges M, Bin F, Waite GK, Lusby WR. 1993. Artifacts and pheromone blends from *Nezara* spp. and other stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae). Z Naturforsch C, 48(1-2):73-79. DOI: https://doi.org/10.1515/znc-1993-1-214.
- Antúnez CC, Storck L, Guedes JVC, Trinidad SA., Antúnez NDC. 2018 Distribución de plagas y sus enemigos naturales en el cultivo de soja en Paraguay. FCA-UNA, San Lorenzo, Paraguay. 32 pp.
- Aragón JR., Flores F. 2006. Control integrado de plagas en soja en el sudeste de Córdoba. EEA INTA Marcos Juárez. 9 pp..
- Azmy NM. 1976. Sexual activity, fecundity and longevity of *Nezara viridula* (L.). Bul Soc Ent Egypte, 60:323-330.
- Bado SG, Gonzalez JH, Colombani EN, Cuellos RD. 2018. Fluctuación poblacional de *Cydia Pomonella* y *C. molesta* (Lepidoptera: Olethreutidae) en el Valle Inferior del Río Chubut (Región Patagonia Sur, Argentina). Rev. Facultad de Agronomía UBA, 38(2):103-113 (Consultado: 21/06/2021). http://agronomiayambiente.agro.uba.ar/index.php/AyA/article/view/88/83
- Bae S, Yi H, Yoon Y, Jang Y, Kim Y, Maharjan R. 2019. Attraction of stink bugs to rocket traps with different combinations of wing and landing board color. J Asia Pac Entomol, 22(1):243-249. DOI: https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.01.007
- Baldin EL, Fujihara RT, Boiça JR, Arlindo L, de Almeida MC. 2010. Parasitism of passion fruit bugs in Brazil by *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae). Neotrop entomol, 39(2):306-307. DOI: http://dx.doi.org/10.1590/S1519-566X2010000200025

- Barrera JF, Herrera J, Villacorta A, García H, Cruz L. 2006. Trampas de metanol-etanol para detección, monitoreo y control de la broca del café *Hypothenemus hampei*. En Simposio sobre trampas y atrayentes en detección, monitoreo y control de plagas de importancia económica. Chiapas, México: Sociedad Mexicana de Entomología y El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula. 7-83 pp.
- Beerwinkle KR. 2001. An automatic capture-detection, time-logging instrumentation system for boll weevil pheromone traps. Appl Eng Agric, 17:893-898. DOI: 10.13031/2013.6830
- BCRmercados 2021. Informe Semanal. Datos clave de la importancia de la cadena soja en la economía nacional. Bolsa de Comercio de Rosario. N° Edición 1997 Especial Campaña de Soja 2020/21. (Consultado: 03/11/2022). https://www.bcr.com.ar/es/print/pdf/node/85107
- Bianchi FM, Júnior AM, Grazia J, Pereira PRVS, Panizzi AR. 2019. Diversity of stink bugs (Pentatomidae) associated with canola: looking for potential pests. Neotrop Entomol, 48(2):219-224. DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-018-0642-3
- Bilal H, Sanaullah SS, Syed M, Nawaz MA, Sharif U, Fatima M, Raza H, Raza, A. 2021. Automated Identification and Monitoring of Fruit Fly. Curr. Rese. Agri. Far, 2(3):41-44. DOI: http://dx.doi.org/10.18782/2582-7146.144
- Birch ANE, Wheatley RE. 2005. GM pest-resistant crops: assessing environmental impacts on non-target organisms. Sustainability in Agriculture, 21:31-57.
- Blassioli-Moraes MC, Khrimian A, Michereff MFF, Magalhães DM, Hickel E, de Freitas TFS, Barrigossi JAF, Laumann RA, Silva AT, Guggilapu SD, Silva CC, Sant'Ana J, Borges M. 2020. Male-produced sex pheromone of *Tibraca limbativentris* revisited: absolute configurations of Zingiberenol stereoisomers and their influence on chemotaxis behavior of conspecific females. J Chem Ecol, 46(1):1-9. DOI: 10.1007/s10886-019-01125-w
- Borges M, Aldrich JR. 1994. An attractant pheromone for nearctic stink bug, *Euschistus obscurus* (Heteroptera: Pentatomidae): Insigth into a neotropical relative. J Chem Ecol, 20:1095-1101. DOI: https://doi.org/10.1007/BF02059745.

- Borges M, Schmidt FGV, Sujii ER, Medeiros MA, Mori K, Zarbin PHG, Ferreira JTB. 1998. Field responses of stink bugs to the natural and synthetic pheromone of the Neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). Physiol Entomol, 23(3):202-207. DOI: https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1998.233086.x
- Borges M, Zarbin PH, Ferreira JTB, Da Costa ML. 1999. Pheromone sharing: blends based on the same compounds for *Euschistus heros* and *Piezodorus guildinii*. J Chem Ecol, 25(3):629-634. DOI: https://doi.org/10.1023/A:1020914222769.
- Borges M, Morales MCB, Peixoto MF, Pires CSS, Sujii ER., Laumann RA. 2011a. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. J Appl Entomol, 135:68-80. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01507.x.
- Borges M, Blassioli-Moraes MC, Laumann RA, Pareja M, Silva CC, Michereff MFF, Pires DP. 2011b. Chemical ecology studies in soybean crop in Brazil and their application to pest management. En: Tzi-Bun Ng (ed) Soybean-Biochem Chem Physiol Rij Croat Intech Publ, 31–66 pp. (Consultado: 23/03/2020). https://www.intechopen.com/books/soybean-biochemistry-chemistry-and-physiology
- Brézot P, Malosse C, Mori K, Renou M. 1994. Bisabolene epoxides in sex pheromone in *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae): role of cis isomer and relation to specificity of pheromone. J Chem Ecol, 20:3133-3147. DOI: https://doi.org/10.1007/BF02033716
- Cambridge JE, Francoeur L, Hamilton GC. 2017. Brown marmorated stink bug (Hemiptera: Pentatomidae) attraction to various light stimuli. Fla Entomol, 100(3):583-588. DOI: https://doi.org/10.1653/024.100.0315
- Casmuz A, Vera Ma, Díaz Arnijas GH, Cejas Marchi E, Villafañe DA, Defagot IA, Marcial JA, Candela TB, Assaf S, Martínez JO, Múrua MG, Herrero MI, Dami LC, Gastaminza GA. 2021. Plagas en soja Bt y estrategias para su manejo. En: El cultivo de la soja, 95-102 pp. (Consultado: 03/11/2022). https://www.eeaoc.gob.ar/wp-content/uploads/2021/10/soja2021-simple-baja-res-95-10 2.pdf

- Cervera-López E. 2010. Métodos de control de plagas y enfermedades. STD-IVIA, 1- 12 pp. (Consultado: 16/07/2020). https://docplayer.es/2769740-Tema-2-metodos-de-control-de-plagas-y-enfermedades-1-del-concepto-de-exterminio-al-concepto-de-control.html
- Chyun Chan Hyuk, inventor; Chunwoo Environment Service Co Ltd, publicado. 28 Nov 2011. Sensor for Detecting Surface and Apparatus for Capturing Vermin. Corea del Sur patent KR101099946B1.
- Ciceoi R, Dumbrava M, Jerca IO, Pomohaci CM, Dobrin I. 2017. Assessment of the damages on maize crop by the invasive stink bugs *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) and *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758) (Hemiptera: Pentatomidae). Acta Zool Bulg Suppl, 9:211-217.
- Cichón LI, Fernández DE, Raffo D. 2001. Carpocapsa, la plaga clave en manzanos y perales del Valle. IDIA, 21:96-99.
- Cichón LI. 2004. Control de poblaciones de *Cydia pomonella* L.(Lepidoptera: Tortricidae) mediante la técnica de la confusión sexual en el Alto Valle del Río Negro y Neuquén. (Tesis Doctoral), Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. (Consultado: 14/06/2021). http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis 3720 Cichon.pdf
- Cingolani MF. 2012. Parasitismo de huevos de *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) por *Trissolcus basalis* y *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) en el noreste de la provincia de Buenos Aires. Tesis Doctoral en Ciencias Naturales. Universidad Nacional de La Plata. 144 pp. DOI: https://doi.org/10.35537/10915/55187
- Cingolani MF, Greco NM, Liljesthröm GG. 2014. Egg parasitism of *Piezodorus guildinii* and *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) in soybean, alfalfa and red clover. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, 46(1):15-27.
- Cohen Y, Gazit Y, Grinshpon Y, Mizrach A, Rosenfeld L, Shenderey C, Timar D, inventores; Israel State, publicado. 13 Mar 2014. System for Automatic Trapping and Counting of Flying Insects. Francia patent WO2014037936A1.

- Coler RR, Mafra-Neto A, inventores; Isca Technologies Inc, publicado. 20 Jul 2004. Method for pest management using pest identification sensors and network accessible database. Estados Unidos patent US6766251B2.
- Conti E, Avila G, Barratt B, Cingolani F, Colazza S, Guarino S, Hoelmer K, Laumann RA, Maistrello L, Martel G, Peri E, Rodriguez Saona C, Rondoni G, Rostás M, Roversi PF, Sforza RFH, Tavella L, Wajnberg E. 2021. Biological control of invasive stink bugs: review of global state and future prospects. Entomol Exp Appl, 169(1):28-51. DOI: https://doi.org/10.1111/eea.12967.
- Coombs MT. 2004. Overwintering survival, starvation resistance, and post-diapause reproductive performance of *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) and its parasitoid *Trichopoda giacomelli* Blanchard (Diptera: Tachinidae). Biol Control 30:141-148. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2003.10.001.
- Corrêa-Ferreira BS, Nunes MC, Uguccioni LD. 1998. Ocorrência do parasitóide *Hexacladia smithii* Ashmead em adultos de *Euschistus heros* (F.) no Brasil. An Soc Entomol Bras, 27(3):495-498. DOI: https://doi.org/10.1590/S0301-80591998000300022
- Costa ML, Borges M, Vilela EF, Marco Jr.P. D., Lima E.R. 2000. Effect of stereoisomers of the main component of the sex pheromone of *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) in the attractiveness of females. An Soc Entomol Brasil, 29(3):413-422. DOI: https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000300004
- Cuezzo, F., y Fidalgo, P. (1997). *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae): a new record for Argentina and two new pentatomid hosts recorded, *Antiteuchus variolosus* Westwood and *Edessa meditabunda* F (Hemiptera: Pentatomidae). Entomol, 116(1):11-14.
- Dagatti CV, Becerra VC. 2015. Ajuste de modelo fenológico para predecir el comportamiento de *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) en un viñedo de Mendoza, Argentina. Rev Soc Entomol Argent, 74 (3-4):117-122. (Consultado: 21/02/2021). http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0373-5680201500020000 3

- Degui H, Yangbin H, Yongjun D, inventores; Ningbo Newcon Inc, publicado 9 Jun. 2010. Induction core trapping automatic counting system. China patent CN201503600U.
- De Santis L. 1963. Encirtidos de la República Argentina. Anales CIC, 4:10-411. (Consultado: 14/01/2021). https://digital.cic.gba.gob.ar/bitstreams/393be2ed-779c-465f-b8f8-2a3e258be857/down load
- de Sene Pinto A, de Freitas Bueno RCO. 2019. Soybean. En: Souza B., Vázquez L., Marucci R. (eds) Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems. Springer, Cham. 397-412 pp. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-030-24733-1 32
- Deyi Y, Jianfeng H, Jinai Y, inventores; Inst of Plant Prot Fujian Academy of Agricultural Sciences, publicado 13 Abr 2011. Photosensitive counting device for insect trapping quantity. China patent CN 102013036A.
- DiMeglio AS, Kuhar TP, Weber DC. 2017. Color preference of harlequin bug (Heteroptera: Pentatomidae). J Econ Entomol, 110(5):2275-2277. DOI: https://doi.org/10.1093/jee/tox179
- Ding W, Taylor G. 2016. Automatic moth detection from trap images for pest management.

  Comput Electron Agr, 123:17-28. DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2016.02.003
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2020. InfoStat versión 2020. Centro de Transferencia InsfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, URL http://www.infostat.com.ar.
- Drees BM, Rice ME. 1985. The vertical beat sheet: a new device for sampling soybean insects. J Econ Entomol, 78(6):1507-1510. DOI: https://doi.org/10.1093/jee/78.6.1507
- Epsky ND, Shuman D. 2001. Laboratory evaluation of an improved electronic grain probe insect counter. J. Stored Prod Res 37(2):187-197. DOI: https://doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00019-9.
- Esquivel JF, Musolin DL, Jones WA, Rabitsch W, Greene JK, Toews MD Schwertner CF, Grazia J, McPherson RM. 2018. *Nezara viridula* (L.). Invasive stink bugs and related

- species (Pentatomoidea): Biology, higher systematics, semiochemistry, and management. CRC Press, Boca Raton, FL, 351-423 pp.
- Fehr WR., Caviness CE., Burmood DT, Pennington JS. 1971. Stage of Development Descriptions for Soybeans *Glycine max* (L.) Merrill. Crop Sci, 11:929-931. DOI: https://doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100060051x
- Fernández C, Urretabizkaya N, Rondanini D, Szremruch C, García F. 2018. Determinación del impacto de pentatómidos fitófagos sobre la calidad química del grano de soja. Resumen de Tesis. Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias. UNLZ. 5 (3): 31-43.
- Fernández DE, Cichon L, Garrido S, Ribes-Dasi M, Avilla J. 2010. Comparison of lures loaded with codlemone and pear ester for capturing codling moths, *Cydia pomonella*, in apple and pear orchards using mating disruption. J Insect Sci, 10(139):1-12. DOI: https://doi.org/10.1673/031.010.13901
- Fernández D. 2012. *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). Aspectos de su taxonomía, comportamiento y monitoreo aplicados a programas de control en grandes áreas. (Tesis doctoral), Universidad de Lleida. 195 pp
- Flores F, Balbi E, Distéfano S, Lenzi L, Juárez EIM. 2016. Cuantificación del daño de chinches en soja bajo distintas estrategias de manejo. SOJA, Actualización 2016. 25 pp.
- Franco-Archundia SL, Gonzaga-Segura AJ, Jiménez-Pérez A, Castrejón-Gómez VR. 2018. Behavioral response of *Leptoglossus zonatus* (Heteroptera: Coreidae) to stimuli based on colors and its aggregation pheromone. Insects, 9(3):91. DOI: https://doi.org/10.3390/insects9030091
- Gamundi JC. 1995. Evaluación de técnicas de muestreo de insectos plaga y depredadores en cultivos de soja con diferentes sistemas de siembra y labranza. Primer Congreso Nacional de Soja, Segunda Reunión Nacional de Oleaginosos. AIANBA, Pergamino (Bs.As.). Tomo II: IV 43- 50 pp.
- Gamundi JC, Andrian M, Bacigaluppo D, Lago M, Lenzi L, Randazzo P, Bodrero M. 2003. Incidencia del complejo de chinches en el cultivo de soja con diferentes espaciamientos

- entre líneas. Soja. Para mejorar la producción de soja. INTA, Estación Experimental Agropecuaria Oliveros. Publicaciones Regionales, 24:79-86.
- Gamundi JC, Sosa MA. 2007. Caracterización de daños de chinches en soja y criterios para la toma de decisiones de manejo. En: E.V. Trumper y J.D. Edelstein (eds), Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo, Ediciones INTA, Manfredi, 19 pp.
- Giacometti R, Jacobi V, Kronberg F, Panagos C, Edison AS, Zavala JA. 2020. Digestive activity and organic compounds of *Nezara viridula* watery saliva induce defensive soybean seed responses. Sci Rep, 10(1):1-12. DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-020-72540-3.
- Giraudo AG. 2019. Aspectos biológicos y etológicos de las principales especies constituyentes del complejo de pentatómidos fitófagos del cultivo de soja en la Argentina y su Manejo Integrado. Revisión Bibliográfica. Tesis en Especialista en Manejo Integrado de Plagas en Cultivos Extensivos. Universidad Nacional de la Pampa. 1-88 pp. (Consultado: 12/01/2021). https://www.researchgate.net/profile/walter-guillot-giraudo/publication/334848951\_asp ectos\_biologicos\_y\_etologicos\_de\_las\_principales\_especies\_constituyentes\_del\_compl ejo\_de\_pentatomidos\_fitofagos\_del\_cultivo\_de\_soja\_en\_la\_argentina\_y\_su\_manejo\_in tegrado\_revision\_bibliografica/links/5d434c2292851cd04699c9e6/aspectos-biologicos-y-etologicos-de-las-principales-especies-constituyentes-del-complejo-de-pentatomidos-fitofagos-del-cultivo-de-soja-en-la-argentina-y-su-manejo-integrado-revision-bibliografica.pdf
- Gomez VA, Gaona EF, Arias OR, de Lopez MB, Ocampos OE. 2013. Aspectos biológicos de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) criados con diferentes dietas en condiciones de laboratorio. Rev. Soc. Entomol Argent, 72(1-2):27-34. (Consultado; 05/11/2020). http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=322028489003
- Grazia J, Panizzi AR, Greve C, Schwertner CF, Campos LA, Garbelotto TDA, Fernandes JAM. 2015. Stink bugs (Pentatomidae). En: True bugs (Heteroptera) of the Neotropics. Springer, Dordrecht. 681-756 pp. DOI 10.1007/978-94-017-9861-7 22

- Guarnieri A, Maini S, Molari G, Rondelli V. 2011. Automatic trap for moth detection in integrated pest management. Bull Insectology, 64(2):247-251.
- Heit G, Sione W, Aceñolaza PG, Zamboni P, Blanco PD, Horak P, Cortese P. 2013. Modelo de distribución potencial de *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Una herramienta de planificación para su detección temprana a nivel regional. (Consultado: 23/06/2021). http://hdl.handle.net/11336/7794
- Ho HY, Millar JG. 2001. Identification and synthesis of male-produced sex pheromone components of the stink bugs *Chlorochroa ligata* and *Chlorochroa uhleri*. J Chem Ecol, 27(10):2067-2095. DOI: https://doi.org/10.1023/A:1012247005129
- Holguin GA, Lehman BL, Hull LA, Jones VP, Park J. 2010. Electronic traps for automated monitoring of insect populations. IFAC Proceedings, 43(26):49-54. DOI: https://doi.org/10.3182/20101206-3-JP-3009.00008
- Holguin GA, Medeiros HP, Park J, inventores; Purdue Research Foundation, publicado. 26 Abr. 2012. Automatic Monitoring of Insect Populations. Francia patent WO2012054397A1
- Iannone N. 2005. Chinches en soja: niveles de decisión para su control según especies y estados del cultivo. Acción rural, 12(53). (Consultado: 26/01/2019). http://www.elsitioagricola.com/plagas/intapergamino/20050118ChinchesSoja.asp
- Iannone N. 2012. Umbrales de decisión para el manejo de chinches en soja en relación a la especie plaga y la fenología del cultivo. Sistema de Alerta Servicio Técnico INTA Pergamino. 1-4 pp. (Consultado: 11/07/2020). https://www.agroconsultasonline.com.ar/documento.html?op=d&documento\_id=305
- Infante, MVS. (2019). Soja en el Gran Chaco Argentino en el siglo XXI. Revista del Cisen Tramas/Maepova, 6(2):107-121.
- Islam A. 2012. Pheromone use for insect control: present status and prospect in Bangladesh.

  Int J Agril Res Innov y Tech, 2 (1):47-55. DOI: https://doi.org/10.3329/ijarit.v2i1.14005

- Jiancheng L, Mengnan L, Wenxu L, Ziyun L, Keliang Q, Jingfa Y, Jingwei Y, inventores; Plant Prot Inst Ppi Hebei Academy Agricultural y Forestry Sciences; Univ Hebei, publicado. 20 Nov. 2013. Insect pest situation forecast system based on single chip. China patent CN103399513A.
- Jiang J, Tseng CL, Lu FM, Yang EC, Wu ZS, Chen CP, Lin SH, Lin KC, Liao CS. 2008. A GSM-based remote wireless automatic monitoring system for field information: A case study for ecological monitoring of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel). Comput Electron Agr, 62(2):243-259. DOI: https://doi.org/10.1016/j.compag.2008.01.005
- Johnson MW. 2000. Nature and Scope of Biological Control. Biological Control of Pest, ENTO 675, Manoa.
- Jung SC, Kim YG, Kim Y. Lee YT, inventores; Andong Nat University Industry; Green Agro Tech Co Ltd, publicado. 7 May 2009. It Pheromone Trap and its Application to Insect Monitoring System. Corea del Sur patent KR20090043788A.
- Jung SC, Kim YG, Kim Y. Lee YT, inventores; Andong Nat University Industry; Green Agro Tech Co Ltd, publicado. 25 May 2010. It Pheromone Trap and Remote Monitoring System Using the Same. Corea del Sur patent KR20100054331A.
- Kim Y, Jung S, Kim Y, Lee Y. 2011. Real-time monitoring of oriental fruit moth, *Grapholita molesta*, populations using a remote sensing pheromone trap in apple orchards. J Asia Pac Entomol, 14(3):259-262. DOI: 10.1016/j.aspen.2011.03.008
- Kliewe V. 1998. Elektronisch gesteuerte zeitfalle zur untersuchung der tageszeitlichen aktivitat von bodenarthropoden. Beitr Ent 48(2):541-543. DOI: https://doi.org/10.21248/contrib.entomol.48.2.541-543
- Kondo A, Sano T, Tanaka F. 1994. Automatic record using camera of diel periodicity of pheromone trap catches. Jpn. J Appl Entomol Z. 38(3): 197- 199.
- Krinski D, Favetti BM, Lima AGD, Brum TR. 2013. Oviposition preference of the neotropical brown stink bug *Euschistus heros* on artificial substrates of different colors.

- Cienc Rural, 43(12):2185-2190. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-84782013001200011.
- Kuswantoro H, Mejaya IMJ, Baliadi Y. 2020. Determination of agronomical characters as the resistance attribute of twenty soybean varletles to stink bug (*Nezara viridula* L.). AGRIVITA. J Agric Sci, 42(1): 53–67. DOI: http://doi.org/10.17503/agrivita.v42i1.2121
- Landwehr VR, Aguledo-Silva F. 2005. Method and system for detecting and classifying objects in images, such and insects and other arthropods. U.S. Patent No. 0025357. (Consultado: 08/11/2020). https://patents.google.com/patent/US7496228B2/en
- Laumann RA, Moraes MCB, Khrimian A, Borges M. 2011. Field capture of *Thyanta perditor* with pheromone baited traps. Pesq agropec bras 46(2):113-119. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000200001
- Leguizamón A. 2014. Roundup Ready Nation: The Political Ecology of Genetically Modified Soy in Argentina. CUNY Academic Works. 209 pp. (Consultado: 03/11/2020). https://academicworks.cuny.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1060&context=gc\_etds
- Leskey TC, Hogmire HW. 2005. Monitoring stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in mid-Atlantic apple and peach orchards. J Econ Entomol, 98(1):143-153. DOI: https://doi.org/10.1093/jee/98.1.143.
- Leskey TC, Wright SE, Short BD, Khrimian A. 2012. Development of behaviorally-based monitoring tools for the brown marmorated stink bug (Heteroptera: Pentatomidae) in commercial tree fruit orchards. J Entomol Sci, 47(1):76–85. DOI: https://doi.org/10.18474/0749-8004-47.1.76
- Liljesthröm G, Coviella C 1999. Aspectos de la dinámica poblacional de las chinches *Nezara* viridula y *Piezodorus guildinii* e implicancias con relación. Rev Soc Entomol Argent, 58(3-4):141-149.
- Lima MCF, de Almeida Leandro MED, Valero C, Coronel LCP, Bazzo COG. 2020.

  Automatic detection and monitoring of insect pests—a review. Agriculture, 10(5):161.

  DOI: 10.3390/agriculture10050161

- Link D, De Ramos JP, Link FM. 2006. Incidência do percevejo barriga verde, em lavouras de soja. ATA e Resumos. XXXIV Reunião de Pesquisa de Soja da Região Sul. Pelotas. 126 pp.
- López O, Rach MM, Migallon H, Malumbres MP, Bonastre A, Serrano JJ. 2012. Monitoring pest insect traps by means of low-power image sensor technologies. Sensors, 12(11):15801-15819. DOI: https://doi.org/10.3390/s121115801
- Lucarelli F. 2015. Fluctuación temporal de la abundancia de artrópodos de interés agronómico en cultivo de soja [Glycine max [L.] merr] con dos espaciamientos entre líneas. Universidad Nacional de Villa María, Instituto Académico-Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas. Villa María, Córdoba. 60 pp. (Consultado: 09/0372020). https://inta.gob.ar/sites/default/files/tesis fabricio lucarelli.pdf
- Maqueira-López LA, la-Noval WTD, Roján-Herrera O, Pérez-Mesa SA, Toledo D. 2016. Respuesta del crecimiento y rendimiento de cuatro cultivares de soya *Glycine max*. (L.) Merril) durante la época de frío en la localidad de Los Palacios. Cultrop, 37(4):98-104. DOI: http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.17255.65447
- Mankin RW 2012. Applications of acoustics in insect pest management. CAB Rev, 7(1):1-7. DOI: doi: 10.1079/PAVSNNR20127001
- Massaro RA, Gamundi JC. 2006. Muestreo de insectos plaga de la soja... del ojímetro al paño vertical! INTA EEA Oliveros, Santa Fe. 4 pp.
- Massaro RA. 2008. Plagas insectiles del cultivo. 2010. CREA, Cuaderno de Actualización Soja, Capítulo 6. INTA EEA Oliveros, Para Mejorar la Producción 45, Soja. 63-70 pp.
- Massoni F, Frana J. 2006. Duración de los estados inmaduros de la chinche de la alfalfa (*Piezodorus guildinii*) en el cultivo de soja. Información técnica cultivos de verano. Campaña, 2006. Publicación Miscelánea N°106. 159-162 pp.
- Massoni F, Frana J. 2007. Ciclo biológico de la chinche de la alfalfa (*Piezodorus guildinii*) en el cultivo de soja. campañas 2004/05, 2005/06 y 2006/07. Publicación miscelánea N°108. EEA Rafaela. 153-161 pp.

- Matsuda Y, Nonomura T, Kakutani K, Takikawa Y, Kimbara J, Kasaishi Y, Osamura K, Kusakari S, Toyoda H. 2011. A newly devised electric field screen for avoidance and capture of cigarette beetles and vinegar flies. Crop Prot, 30(2):155-162. DOI:https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.09.001
- Medina V, Sardoy PM, Soria M, Vay CA, Gutkind GO, Zavala JA. 2018. Characterized non-transient microbiota from stinkbug (*Nezara viridula*) midgut deactivates soybean chemical defenses. PloS One, 13(7):e0200161. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200161.
- Meixiang C, Wenyong L, Baocai S, Chuanheng S, Xiaowei D, Tingwei N, Ming L, Yong Z, Hui, Xinting Y, inventores; Beijing Acad Agric y Forestry, publicado 3 Sep. 2014. Insect trapping and counting device. China patent CN203812266U.
- Mensah-Bonsu M, Dingha BN, Jackai LEN, Adjei-Fremah S, Worku M. 2020. Evaluation of preference of brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål) for different colour bell peppers and the role of plant protein. Arthropod-Plant Interactions 14:363–372. DOI: https://doi.org/10.1007/s11829-020-09744-x
- Millar JG, McBrien HL, Ho HY, Rice RE, Cullen E, Zalom FG, Üokl A. 2002. Pentatomid bug pheromones in IPM: possible applications and limitations. Int Org Biol Control Bull, 25: 241–250. (Consultado: 22/09/2020). http://phero.net/iobc/samos/bulletin/millar.pdf
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina. 2022a. Informe Soja 2021-2022. Sistema de Información Simplificado Agrícola (SISA). Instituto Nacional de Semillas (INASE). (Consultado: 22/10/2022). https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/informe\_sisa\_soja\_inase\_21\_22.pdf
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina. 2022b. Senasa, Carpocapsa. (Consultado: 12/02/2022). https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/cadenavegetal/frutales/frutal es-produccion-primaria/carpocapsa
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca Argentina. 2022c. Senasa, *Lobesia botrana*. (Consultado: 12/02/2022).

- https://www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/cadena-vegetal/frutales/frutales-produccion-primaria/programas-fitosanitarios/lobesia-botrana
- Ministerio de Hacienda de la Nación. 2019. Informes de Cadenas de Valor. Oleaginosas:

  Soja septiembre 2019. Subsecretaría de Programación Microeconómica (SSPMicro).

  Secretaría de Política Económica. (Consultado: 11/01/2021)

  https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/sspmicro cadenas de valor soja.pdf
- Miranda JL, Gerardo BD, Tanguilig III BT. 2014. Pest detection and extraction using image processing techniques. Int. J. Comput Commun Eng, 3(3):189-192. DOI:10.7763/IJCCE.2014.V3.317
- Molina AR. 2006. La soja y sus insectos y otros organismos: benéficos y perjudiciales. Tomo 1. 1ª ed. Repunte Gráfica. 96 pp.
- Molina AR. 2008. La soja y sus insectos y otros organismos: benéficos y perjudiciales. Tomo 2. 1ª ed: Repunte Gráfica. 96 pp.
- Molina AR. 2011. La soja y sus insectos y otros organismos: benéficos y perjudiciales. Tomo 3. 1ª ed: Repunte Gráfica. 96 pp.
- Molinari A, Monetti C. 1997. Parasitoides (Hymenoptera) de insectos plaga del cultivo de soja en el centro sur de la provincia de Santa Fe (Argentina). Rev Soc Entomol Argent, 56(1-4):43-46.
- Molinari AM, La Porta NC, Massoni YF. 2008. Parasitoides (Hymenoptera y Diptera) de Hemípteros Fitófagos. En: E.V. Trumper y J.D. Edelstein (eds.) Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo, Ediciones INTA, Manfredi, Cap.8, 107-128 pp.
- Molinari AM, Massaro RA, Perotti E. 2015. La "chinche marrón" *Euschistus (Euschistus) heros* (F.) en Soja. Centro Regional Santa Fe, INTA EEA Oliveros. Artículo técnico. 1-5 pp.
- Moliterno AAC, De Melo DJ, Zarbin PHG. 2021. Identification of Zingiberenol and Murgantiol as components of the aggregation-sex pheromone of the Rice Stink Bug,

- *Mormidea v-luteum* (Heteroptera: Pentatomidae). J Chem Ecol, 47(1):1-9. DOI: https://doi.org/10.1007/s10886-020-01231-0
- Montiel A, Jones OT. 1989. Estado actual del uso de feromonas en el manejo integrado de plagas del olivo. Bol San Veg Plagas, 15(2):161-173.
- Murúa MG, Scalora FS, Navarro FR, Cazado LE, Casmuz A, Villagrán ME Lobos E, Gastaminza G. 2014. First record of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Argentina. Fla Entomol, 97(2):854-856. DOI: http://dx.doi.org/10.1653/024.097.0279
- Murúa MG, Vera MA, Herrero MI, Fogliata SV, Michel A. 2018. Defoliation of soybean expressing Cry1Ac by lepidopteran pests. Insects, 9(3):93. DOI: doi:10.3390/insects9030093
- Jones OT. 1989. Estado actual del uso de feromonas en el manejo integrado de plagas del olivo. Bol San Veg Plagas, 15:161-173
- Navarro Montes DE. 2010. Manejo integrado de plagas. Cooperative Extension Service.

  University of Kentucky. College of Agriculture, Lexington, KY, 40546. ID-181. 1-20

  pp. (Consultado: 13/02/2020).

  https://www.ifam.es/wp-content/uploads/2015/05/id181.pdf
- Nunes MC, Corrêa-Ferreira BS. 2002. Desempenho alimentar e sobrevivência de *Euschistus heros* parasitado por *Hexacladia smithii* em sementes de soja. Pesq agropec bras, 37(9):1219-1224. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-204X2002000900003.
- Okuyama T, Yang EC, Chen CP, Lin TS, Chuang CL, Jiang JA. 2011. Using automated monitoring systems to uncover pest population dynamics in agricultural fields. Agric Syst, 104(9):666-670. DOI: https://doi.org/10.1016/j.agsy.2011.06.008
- Panizzi AR, Mc Pherson JE, James DG, Javahery M, Mc Pherson RM. 2000. Stink bugs (Pentatomidae). 421-474. En: Schaefer CW, Panizzi AR editores. Heteroptera of Economic Importance. CRC Press, Boca Raton, FL. (Consultado: 04/05/2020). https://books.google.es/books?hl=esylr=yid=00jRBQAAQBAJyoi=fndypg=PA421ydq =Chapter+13:+Stink+bugs+(Pentatomidae)yots=bQV6SmWs Lysig=KanCatp9E3IwZ

- oRsePkDDF31EQg#v=onepageyq=Chapter%2013%3A%20Stink%20bugs%20(Pentat omidae)yf=false
- Panizzi AR, Cardoso SR, Chocorosqui VR. 2002. Nymph and adult performance of the small green stink bug, *Piezodorus guildinii* (Westwood) on lanceleaf crotalaria and soybean. Braz Arch Biol Techn, 45(1): 53-58. https://doi.org/10.1590/S1516-89132002000100009.
- Panizzi AR. 2008. Southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae). En: Encyclopedia of Entomology. Ed. Capinera, J.L. Springer, Alemania. 3471-3472. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6
- Panizzi AR, Silva JJ. 2010. New Records of Pentatomids as Hosts of *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) in Southern Brazil. Neotrop entomol, 39(4):678-679. DOI: https://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000400034
- Paolilli MC, Cabrini SM, Pagliaricci LO, Fillat FA, Bitar MV. 2019. Importancia de la cadena de soja en Argentina. Ediciones INTA. Revista de Tecnología Agropecuaria RTA 10 (39):42-46.
- Perotti E, Gamundi JC, Russo R. 2010. Control de *Piezodorus guildinii* (Westwood ) en el cultivo soja. Para mejorar la Producción. INTA EEA Oliveros. 45:109-115.
- Pires CSS, Sujii ER, Schmidt FGV, Zarbin PHG, Almeida JRM, Borges M, 2006. Potencial de uso de armadilhas iscadas com o feromonio sexual do percevejo marrom, *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae), para o monitoramento populacional de percevejos praga da soja. Manejo Integrado Plagas Agroecol, 7:70–77. (Consultado: 14/08/2019). https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/188786/1/ID285481.pdf
- Priya CT, Praveen K, Srividya A. 2013. Monitoring of pest insect traps using image sensors y dspic. Int J Eng Trends Tech, 4(9):4088-4093.
- Potamitis I, Rigakis I, Fysarakis K. 2014. The electronic McPhail trap. Sensors, 14(12):22285-22299. DOI: https://doi.org/10.3390/s141222285.

- Potamitis I, Eliopoulos P, Rigakis I. 2017. Automated remote insect surveillance at a global scale and the internet of things. Robotics, 6(3):19. DOI: https://doi.org/10.3390/robotics6030019
- Preti M, Verheggen F, Angeli S. 2021. Insect pest monitoring with camera-equipped traps: strengths and limitations. J Pest Sci 94:203-217. DOI: https://doi.org/10.1007/s10340-020-01309-4
- Ramírez J. 2019. Evaluación de la eficacia de glufosinato de amonio en sistemas de producción de soja, con alta presión de *Conyza* spp en estadios avanzados. Tesis de Grado en Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional de La Plata. 1-59 pp. (Consultado: 23/05/2020). https://core.ac.uk/download/pdf/211017564.pdf
- Reza AMS, Parween S. 2006. Differential preference of colored surface in *Tribolium castaneum* (Herbst). Invertebrate surviv, 3(2):84-88. (Consultado: 13/11/2019). https://www.isj.unimore.it/index.php/ISJ/article/view/126/42
- Ribeiro A, Castiglioni E, Silva H, Bartaburu S. 2009. Fluctuaciones de poblaciones de pentatómidos (Hemiptera: Pentatomidae) em soja (*Glycine max*) y lótus (*Lotus corniculatus*). Bol San Veg Plagas, 35(3):429-438.
- Ribeiro Gonnet, AF. 2007. Fluctuaciones de poblaciones de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) y caracterización de sus enemigos naturales en soja y alfalfa. Tesis de Magíster en Ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad de la República Oriental del Uruguay. 1-70 pp.
- Rimoldi F, Schneider MI, Ronco AE. 2012. Short and long-term effects of endosulfan, cypermethrin, spinosad, and methoxyfenozide on adults of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). J Econ Entomol, 105(6):1982-1987. DOI: https://doi.org/10.1603/EC12189
- Roosjen PP, Kellenberger B, Kooistra L, Green DR, Fahrentrapp J. 2020. Deep learning for automated detection of *Drosophila suzukii*: potential for UAV based monitoring. Pest Manag Sci, 76(9):2994-3002. DOI: https://doi.org/10.1002/ps.5845

- Rustia DJA, Lin CE, Chung JY, Zhuang YJ, Hsu JC, Lin TT. 2020. Application of an image and environmental sensor network for automated greenhouse insect pest monitoring. J Asia Pac Entomol, 23(1):17-28. DOI: https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.11.006
- Saluso A, Ermácora O, Anglada M, Toledo C, Borguesan C. 2007. Principales invertebrados plagas de la soja y técnicas utilizadas en la toma de decisiones (Campaña agrícola 2006-2007). Rev Cient Agropec, 11:153-158.
- Santos DJ. 2010. Fenología en el Cultivo de Soja: una "hoja de ruta". Segunda edición. INTA EEA Paraná. 1-11 pp.
- Satorre EH. 2005. Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. Ciencia hoy, 15(87):24-31.
- Schneider MI, Sanchez N, Pineda S, Chi H, Ronco A. 2009. Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): ecological approach. Chemosphere, 76(10):1451-1455. DOI: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.05.029
- Schouest Jr. LP, Miller TA. 1994. Automated pheromone traps show male pink bollworm (Lepidoptera: Gelechiidae) mating response is dependent on weather conditions. J Econ Entomol, 87(4):965-974.
- Sciarretta A, Calabrese P. 2019. Development of automated devices for the monitoring of insect pests. Curr Agri Res, 7(1):19-25. DOI: http://dx.doi.org/10.12944/CARJ.7.1.03.
- Selby RD, Gage SH, Whalon ME. 2014. Precise and low-cost monitoring of *Plum curculio* (Coleoptera: Curculionidae) pest activity in pyramid traps with cameras. Environ Entomol, 43(2):421-431. DOI: https://doi.org/10.1603/EN13136
- SENASA 2021a. Carpocapsa. (Consultado: 23/05/2021) http://www.SENASA.gob.ar/cadena-vegetal/frutales/produccion-primaria/programas-fit osanitarios/carpocapsa
- SENASA 2021b. *Lobesia botrana*. (Consultado: 23/05/2021). http://www.SENASA.gob.ar/cadena-vegetal/frutales/produccion-primaria/programas-fit osanitarios/lobesia-botrana

- Serra GV, La Porta NC. 2001. Aspectos biológicos y reproductivos de *Piezodorus guildinii* (West.) (Hemiptera: Pentatomidae) en condiciones de laboratorio. Agriscientia. 8:51-57. DOI: https://doi.org/10.31047/1668.298x.v18.n0.2645
- Seybold SJ, Donaldson SG. 1998. Pheromones in Insect Pest Management, University of Nevada, Cooperative Extension Fact Sheet FS-98-41. 2 pp.
- Shimoda N, Kataoka T, Okamoto H, Terawaki M, Hata S. 2006. Automatic pest counting system using image processing technique. Japan Soc Agr, 68(3):59-64.
- Shorey HH. 1976. Evolution of pheromonal communication. En: Animal communication by pheromones. Academic Press, New York. 117-121 pp. DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-640450-0.50014-4
- Silva DF, Batista GEAPA, Keogh EJ, Mafra Neto A 2011. Resultados Preliminares na Classificação de Insetos Utilizando Sensores Ópticos. En: XXXI Encontro Nacional de Inteligência Computacional (ENIA'11). 749-760 pp. (Consultado: 23/06/2020). http://www2.sbc.org.br/csbc2011/anais/eventos/contents/ENIA/ENIA\_Sessao\_14\_Arti go 4 Silva.pdf
- Silva CCA, Laumann RA, Ferreira JBC, Moraes MCB, Borges M, Cokl A. 2012. Reproductive biology, mating behavior, and vibratory communication of the brown-winged stink bug, *Edessa meditabunda* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae). Psyche, 2012: 1-9. DOI: https://doi.org/10.1155/2012/598086
- Socías MG. 2019. Cartilla: Insectos fitófagos plagas en soja: monitoreo y reconocimiento. Primer Curso Capacitación. INTA EEA Salta. (Consultado: 08/07/2020). https://inta.gob.ar/sites/default/files/cartilla\_insectos\_fitofagos\_en\_soja\_-\_socías\_m.\_g. pdf
- Soldi RA, Rodrigues MA, Aldrich JR, Zarbin PH. 2012. The male-produced sex pheromone of the true bug, *Phthia picta*, is an unusual hydrocarbon. J Chem Ecol, 38(7):814-824. DOI 10.1007/s10886-012-0147-1
- Soleño J, Parra-Morales LB, Cichón L, Garrido S, Guiñazú N, Montagna CM. 2019.

  Occurrence of pyrethroid resistance mutation in *Cydia pomonella* (Lepidoptera:

- Tortricidae) throughout Argentina. Bull Entomol Res, 1-6. DOI: https://doi.org/10.1017/S0007485319000439
- Stern VM, Smith RF, Van Den Bosch K, Hagen KS. 1959. The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid: the integrated control concept. Hilgardia, 29(2):81-101. DOI:10.3733/hilg.v29n02p081.
- Suárez A., Molina RS, Ramponi G, Petrino R, Bollati L, Sequeiros D. 2021. Pest detection and classification to reduce pesticide use in fruit crops based on deep neural networks and image processing. En 2021 XIX Workshop on Information Processing and Control (RPIC). 1-6. DOI: 10.1109/RPIC53795.2021.9648485
- Tanaka N, Matsuda Y, Kato E, Kokabe K, Furukawa T, Nonomura T, Honda K, Kusakari S, Imura T, Kimbara J, Toyoda H. 2008. An electric dipolar screen with oppositely polarized insulators for excluding whiteflies from greenhouses. Crop Prot, 27(2):215-221. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2007.05.009
- Thangalakshmi S, Ramanujan R. 2015. Electronic Trapping and Monitoring of Insect Pest Troubling Agricultural Fields. Int J Emerg Eng Res Technol, 3:206-213.
- Tirelli P, Borghese NA, Pedersini F, Galassi G, Oberti R. 2011. Automatic monitoring of pest insects traps by Zigbee-based wireless networking of image sensors. En: IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference, 2011. 1-5 pp. DOI: 10.1109/IMTC.2011.5944204.
- Tillman PG, Aldrich JR, Khrimian A, Cottrell TE. 2010. Pheromone attraction and cross-attraction of *Nezara*, *Acrosternum*, and *Euschistus* spp. stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae) in the field. Environ Entomol, 39(2):610-617. DOI: https://doi.org/10.1603/EN09114
- Tillman PG, Cottrell TE. 2019. Comparison of Two Insect-Collecting Devices for Trapping Stink Bugs (Hemiptera: Pentatomidae). J Entomol Sci, 54(4):409-416. DOI: https://doi.org/10.18474/JES18-131

- Tobin PC, Kenneth TK, Donna SL. 2009. *Gypsy Moth* (Lepidoptera: Lymantriidae) Flight Behavior and Phenology Based on Field-Deployed Automated Phenomene-Baited Traps. Environ Entomol, 38(6):1555-1562. DOI: https://doi.org/10.1603/022.038.0606.
- Todd JW. 1989. Ecology and behavior of *Nezara viridula*. Ann Rev Entomol, 34(1):273-292. DOI: https://doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.001421
- Torréns J, Fidalgo P, Fernández C, Punschke E. 2017. A new species of *Hexacladia* Ashmead (Hymenoptera, Encyrtidae) and new record of *Hexacladia smithii* Ashmead as parasitoids of *Dichelops furcatus* (Fabricius) (Hemiptera, Pentatomidae) in Argentina. J Hymenopt Res, 61:75-83. DOI: 10.3897/jhr.61.20742.
- Troiani H, Steibel P. 2008. Reconocimiento de malezas: Región subhúmeda y semiárida pampeana. Universidad Nacional de La Pampa, Colegio de Ingenieros Agrónomos de La Pampa, Santa Rosa. (Consultado: 02/12/2020). http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/rdata/libro/html/l\_trorec001/descripciones\_web\_a g/Glycine max.htm
- Turchen LM, Golin V, Favetti BM, Butnariu AR, Costa VA. 2015. Natural parasitism of *Hexacladia smithii* Ashmead (Hymenoptera: Encyrtidae) on *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae): new record from Mato Grosso. Arq Inst Biol, 82:1-3. DOI: https://doi.org/10.1590/1808-1657000852013.
- Ulhoa LA, Barrigossi JAF, Borges M, Laumann RA, Blassioli Moraes MC. 2020. Differential induction of volatiles in rice plants by two stink bug species influence behaviour of conspecifics and their natural enemy *Telenomus podisi*. Entomol Exp Appl, 168(1):76-90. DOI: 10.1111/eea.12869
- 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. Bol San Veg Plagas, 33:469-476 (Consultado: 20/10/2022). https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/43651
- Vera MA, Acosta G, Murúa MG, Casmuz AS, Fadda L, Gastaminza GA. 2018. Ficha Técnica: Plagas no blanco de la soja Bt: Complejo de especies del género *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae). Estación Experimental Agroindustrial Obispo

- Colombres. Avance Agroindustrial, 39(3): 1-2 (Consultado: 20/10/2022). https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/95741/CONICET\_Digital\_Nro.cb9adfl f-cae5-48fe-a824-a19170c532ae A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Vera MA, Perini CR, Murúa MG, Casmuz AS, Gastaminza G, Guedes JC. 2021. First record of the soybean stem fly *Melanagromyza sojae* (Diptera: Agromyzidae) in chickpea crops. Int J Trop Insect Sci, 41(2): 1869-1874. DOI: https://doi.org/10.1007/s42690-020-00383-6
- Ves Losada J. 2005. Manejo Integrado de Plagas. Manual de pasturas, Bayer Cropscience. E.E.A. INTA Anguil. 11-16 pp.
- Vitti Scarel DE, Sosa MA. 2008 Insectos plagas en soja. EEA Reconquista. INTA. Reconquista. Voces y ecos. N°10, (22): 6-10 pp.
- Vivas LE, Notz A. 2010. Determinación del umbral y nivel de daño económico del chinche vaneador del arroz, sobre la variedad cimarrón en Calabozo estado de Guárico, Venezuela. Agronomía Trop, 60(3):271-281.
- Wauchope RD. 1978. The pesticide content of surface water draining from agricultural fields-a review. J Environ Qual, 7(4):459-472. DOI: https://doi.org/10.2134/jeq1978.00472425000700040001x
- Wei C, Xin C, Zichu W, Yudan W, Qingsong X, inventores; Nimrod Inc; Univ Changzhou, publicación. 19 Nov. 2014. Remote pest forecasting device using combination of internet-of-things and sex attractant. China patent CN104145919A.
- Weinzierl R, Henn T, Koehler PG, Tucker CL. 2005. Insect attractants and traps. IFAS Extension. Gainesville, FL: University of Florida Publication. 1-9 pp. (Consultado: 23/08/2020). http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.547.6340&rep=rep1&type=p df
- Wen C, Guyer DE, Li W. 2009. Automated insect classification with combined global and local features for orchard management.- ASABE Paper No. 095865, American Society

- of Agricultural and Biological Engineers, St. Joseph, Michigan, USA. DOI: 10.13031/2013.26977
- Werdin González JO, Ferrero AA. 2008. Tabla de vida y fecundidad de *Nezara viridula* var.

  Smaragdula (Hemiptera: Pentatomidae) alimentada sobre frutos de *Phaseolus vulgaris*L. (Fabaceae). Idesia, 26(1):9-13. DOI: http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292008000100002
- Werdin González JO. 2010. Alternativas para el manejo integrado de *Nezara viridula* (L.), insecto plaga de la soja. Tesis Doctor en Biología. Universidad Nacional del Sur. Bs As. 253 pp.
- Zarbin PH, Reckziegel A, Plass E, de Oliveira AR, Simonelli F, Marques FDA. 2000. Synthesis of the minor sex pheromone component of two brazilian soybean stink bugs (Het.: Pentatomidae), and an analogue compound. J. Braz. Chem. Soc. 11(6): 572-577. DOI: https://doi.org/10.1590/S0103-50532000000600004
- Zela Uscamayta, K. 2016. Trampas de color para control de insectos plaga en hortalizas de hoja en el Centro Poblado de Jayllihuaya–Puno. Tesis de Grado en Ingeniería Agronómica. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela Profesional de Ingeniería Agronómica. 98 pp.
- Zhong Y, Gao J, Lei Q, Zhou Y. 2018. A vision-based counting and recognition system for flying insects in intelligent agriculture. Sensors. 18(5):1489. DOI: https://doi.org/10.3390/s18051489

#### Imágenes:

Flickr. Adulto *Lobesia botrana*. (Consultado: 09/04/2021). https://www.flickr.com/photos/gails\_pictures/6660886455

Rafaela. (s.f.). Wikipedia. (Consultado: 12/12/2020). https://es.wikipedia.org/wiki/Rafaela

Sunchales. (s.f.). Wikipedia. (Consultado: 12/12/2020). https://es.wikipedia.org/wiki/Sunchales

SINAVIMO (Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas) 2021a.

Nezara viridula. (Consultado: 23/01/2019).

https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/nezara-viridula

SINAVIMO (Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas) 2021b.

Piezodorus guildinii. (Consultado el 23/01/2019).

https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/piezodorus-guildinii

Pixabay. Ninfa Estadio V Nezara viridula. (Consultado: 9/03/2021).

https://pixabay.com/es/photos/hemiptera-nezara-viridula-macro-821597/

wikimedia.org. (Consultado: 07/09/2020).

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Provincia de Santa Fe, Argentina.png

Wikimedia Commons. (Consultado: 07/09/2020).

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Santa Fe (Argentina).png

Wikimedia Commons. Adulto de *Cydia pomonella*. (Consultado: 09/04/2021).

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cydia.pomonella.7454.jpg

## **ANEXOS**

**ANEXO I - Patente y Publicaciones Científicas** 

**ANEXO II - Olfatómetros** 

ANEXO III - Extracción de feromona de Nezara viridula



TESIS DOCTORAL - LUCIANA BOLLATI

#### ANEXO I: PATENTE Y PUBLICACIONES CIENTÍFICAS

#### 1. Patente

Integrated system for the control, detection, monitoring, evaluation and treatment of crop pest. Gerardo R. Marchesini, Ezequiel Manavela Chiapero, Luciana V. Bollati, Walter Daniel Sequeiros. Priority N°: 62/582,322 (07/11/17), PCT/IL2018/051192 (07/11/2018).

#### 2. Publicaciones relacionadas con la Tesis

- Suárez A., Molina RS, Ramponi G, Petrino R, Bollati L, Sequeiros D. 2021. Pest detection and classification to reduce pesticide use in fruit crops based on deep neural networks and image processing. En 2021 XIX Workshop on Information Processing and Control (RPIC). 1-6. DOI: 10.1109/RPIC53795.2021.9648485
- Bollati LV, Bertolaccini I, Curis MC, Marchesini GR. 2018. Selectivity of the parasitoid *Hexacladia smithii* (Hymenoptera: Encyrtidae) on individuals of stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) soybean pests. Acta Zoologica Lilloana, 62 (Suplemento):109-112. http://www.lillo.org.ar/revis/zoo/2018/2018-azl-v62-s.pdf

#### 3. Publicaciones no relacionadas con la Tesis

- Bertolaccini I, Curis MC, Lutz A, Favaro JC, Bollati L, Gallardo FE. 2018. Effect of *Euxestophaga argentinensis* (Hymenoptera, Figitidae) on corn-silk fly larvae *Euxesta* sp. in two sweet corn planting dates. Chilean J Agric Anim Sci, 34(3):185-190. DOI: http://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902018005000501
- Bertolaccini I, Curis MC, Lutz A, Bollati L, Favaro JC. 2018. Parasitism of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), in the peri-urban horticultural area of Santa Fe town. Acta Zoologica Lilloana, 62 (Suplemento):20-22. . http://www.lillo.org.ar/revis/zoo/2018/2018-azl-v62-s.pdf

- Curis MC, Bertolaccini I, Gallardo FE, Lutz A, Bollati L, Reche VA, Favaro JC. 2018. Parasitismo de *Euxesta elut*a (Diptera: Otitidae) por *Euxestophaga argentinensis* (Hymenoptera: Figitidae). Acta Zoológica Lilloana, 62 (Suplemento):112-114. http://www.lillo.org.ar/revis/zoo/2018/2018-azl-v62-s.pdf
- Bollati L, Seminara C, Avalos S, Diaz Napal G, Palacios S, Defagó MT 2014. Effect of *Flourensia oolepis* Blake (chilca) Extract on Adults of *Helicoverpa gelotopoeon* Dyar (Lepidoptera: Noctuidae) and its Parasitoid *Archytas* sp. (Diptera: Tachinidae). Biopestic. Int, 10:117-125. http://www.connectjournals.com/file\_full\_text/2142602H\_117-125.pdf
- Seminara C, Bollati L, Avalos S, Diaz Napal G, Palacios S, Defagó MT 2014. Antifeedant and Toxic Effect of Crude Extract from *Flourensia oolepis* and their Impact on Nutritional Parameters of *Helicoverpa gelotopoeon*. J Appl Sci Environ Manage, 18(4):577-581. DOI: 10.4314/jasem.v18i4.3
- Bollati L, Seminara C, Avalos S, Defagó MT. 2014. Efecto de la ingesta de extracto de *Flourensia oolepis* (Asteraceae) sobre *Helicoverpa gelotopoeon* (Lepidoptera: Noctuidae) y su parasitoide *Archytas* sp. (Diptera: Tachinidae). Acta Zoológica Lilloana,57(Suplemento):27-29. ttp://www.lillo.org.ar/revis/zoo/2013/v57s/v57sa02.pdf

#### ANEXO II: OLFATÓMETROS. EVOLUCIÓN EN EL DISEÑO

Durante el desarrollo de esta Tesis, se han fabricado diferentes modelos de olfatómetros para realizar las distintas pruebas, los cuales evolucionaron a medida que se fueron detectando ciertos inconvenientes en su funcionamiento (Fig. 67).

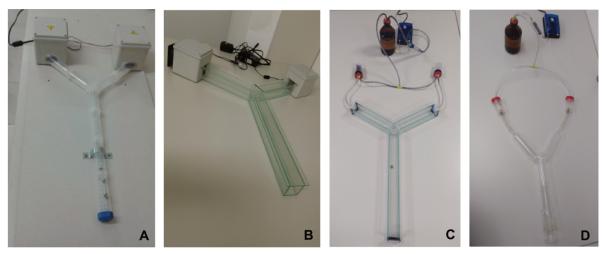


Figura 67 Evolución en el diseño de los olfatómetros. A) Primer olfatómetro (2015). B) Segundo olfatómetro (2015). C) Tercer olfatómetro (2016). D) Cuarto olfatómetro (2017).

Los dos primeros modelos de olfatómetros (Fig. 67..A-B), fueron desarrollados en el año 2015. El primero estuvo constituido por tubos plásticos que formaban una Y, cuyas uniones se sellaron con silicona para evitar filtraciones de aire. En los extremos de cada brazo, se incorporó una caja de plástico a las cuales se le instalaron pequeños ventiladores para generar el flujo de aire necesario para la dispersión de los atrayentes probados. En el extremo del brazo principal, se le colocó una tapa plástica para evitar que escapen los insectos y a la que se le realizaron perforaciones para permitir la circulación de aire.

El inconveniente que se observó con este modelo, fue que los solventes podían quedar adheridos a las paredes plásticas, más allá de su correcto lavado. Para solucionar este problema, se fabricó el segundo olfatómetro, en el cual la estructura de plástico, fue reemplazada por una de vidrio. Además, se construyó de forma cúbica para simplificar el armado. Las partes fueron unidas con sellador de silicona para evitar filtraciones, a excepción de la parte superior que actuaba como tapa para poder retirar a los insectos que se

encontraban en su interior. También, se le colocó en el extremo del brazo principal una tapa plástica con perforaciones para permitir la circulación del aire.

Sin embargo, en este modelo, se detectó que el aire proporcionado por los ventiladores era muy fuerte, por lo que los insectos tenían dificultad para movilizarse hacia las fuentes de olor. A su vez, según la bibliografía consultada, es importante que el aire, antes de entrar en contacto con los atrayentes, sea previamente humidificado y filtrado para evitar la contaminación con posibles olores externos (Borges et al. 2011; Soldi et al. 2012; Blassioli-Moraes et al. 2020; Ulhoa et al. 2020; Moliterno et al. 2021). Para ello, en el año 2016, se adaptó el segundo modelo que permitió que el aire pueda ser controlado y a su vez, que sea humidificado y filtrado (Fig, 67.C). Para ello, se reemplazaron las cajas plásticas con los ventiladores, por recipientes plásticos en donde se colocaron los diferentes tratamientos, a los cuales se les anexó mangueras de goma que se conectaron a un frasco de vidrio con agua. Este fue unido con otras mangueras, a un recipiente provisto de carbón activado, con la finalidad de absorber cualquier solvente proveniente del exterior. Por último, se instaló a un aireador de pecera para proveer corrientes de aire, el cual contó con dos velocidades que permitían regular el flujo necesario para la dispersión de los atrayentes.

Sin embargo, este modelo presentó la desventaja de que, cuando la corriente que ingresaba desde cada brazo llegaba a la unión con el brazo principal, se generaba un remolino de aire que hacía que los olores se mezclaran y no puedan ser diferenciados por los insectos en estudio. Esto fue debido a que el ángulo de separación entre ambos brazos, era muy grande. Este resultado fue obtenido mediante pruebas con humo, donde se podía visualizar el recorrido que realizaba el aire que ingresaba y cómo se comportaba dentro de cada parte.

Por consiguiente, en el año 2017, se rediseñó teniendo en cuenta las características descritas en la bibliografía consultada (Borges et al. 2011; Soldi et al. 2012; Blassioli-Moraes et al. 2020; Ulhoa et al. 2020; Moliterno et al. 2021). Para ello, se fabricó un olfatómetro de vidrio, el cual consistió en una única pieza de forma cilíndrica, con una tapa de vidrio perforada en el extremo del brazo principal. De la misma forma que el modelo anterior, se lo conectó a un aireador para el suministro de aire (Fig. 67.D).

Los distintos modelos fabricados fueron utilizados en las diferentes pruebas mencionadas en el Capítulo 3 de esta Tesis. Sus modificaciones permitieron optimizar su funcionalidad, generando resultados más precisos.

#### Bibliografía

Blassioli-Moraes MC, Khrimian A, Michereff MFF, Magalhães DM, Hickel E, de Freitas TFS, Barrigossi JAF, Laumann RA, Silva AT, Guggilapu SD, Silva CC, Sant'Ana J, Borges M. 2020. Male-produced sex pheromone of *Tibraca limbativentris* revisited: absolute configurations of Zingiberenol stereoisomers and their influence on chemotaxis behavior of conspecific females. J Chem Ecol, 46(1):1-9. DOI: 10.1007/s10886-019-01125-w

Borges M, Morales MCB, Peixoto MF, Pires CSS, Sujii ER., Laumann RA. 2011. Monitoring the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) with pheromone-baited traps in soybean fields. J Appl Entomol, 135:68-80. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2010.01507.x.

Moliterno AAC, De Melo DJ, Zarbin PHG. 2021. Identification of Zingiberenol and Murgantiol as components of the aggregation-sex pheromone of the Rice Stink Bug, *Mormidea v-luteum* (Heteroptera: Pentatomidae). J Chem Ecol, 47(1):1-9. DOI: https://doi.org/10.1007/s10886-020-01231-0

Soldi RA, Rodrigues MA, Aldrich JR, Zarbin PH. 2012. The male-produced sex pheromone of the true bug, *Phthia picta*, is an unusual hydrocarbon. J Chem Ecol, 38(7):814-824. DOI 10.1007/s10886-012-0147-1

Ulhoa LA, Barrigossi JAF, Borges M, Laumann RA, Blassioli Moraes MC. 2020. Differential induction of volatiles in rice plants by two stink bug species influence behaviour of conspecifics and their natural enemy *Telenomus podisi*. Entomol Exp Appl, 168(1):76-90. DOI: 10.1111/eea.12869

#### ANEXO III: EXTRACCIÓN DE FEROMONA DE NEZARA VIRIDULA

En este anexo se presenta el informe confeccionado por el Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba de la Facultad de Ciencias Químicas (UNC- CONICET). En el mismo, se muestran los resultados de los análisis realizados mediante GCMS de los compuestos obtenidos en las extracciones de feromona sexual de *Nezara viridula*.



#### Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba

Universidad Nacional de Córdoba - CONICET Facultad de Ciencias Químicas Ciudad Universitaria, X5000HUA, Córdoba ARGENTINA

ESTUDIO:	Análisis por GCMS		FECHA	04 de Marzo 2016
SOLICITANTE:		Luciana Bollati.		
No. de registro/sol	icitud:	20150721-4		
Análisis requerido	:	Perfil cromatográfico de feromo adsorbidas en carbón activado.	nas sexuales	s de Nezara viridula,
Fecha de recepció	on:	30 de Diciembre 2015.		

#### Muestras:

Se receptaron 3 (tres) muestras en tubos eppendorf. Las mismas se encontraban rotuladas como Feromonas cites Nezara viridula EtOH 96%, Feromona comercial E Heros, dilución 1/100 y pura.

#### Metodología:

GCMS, *Clarus* 560, Perkin Elmer. Los datos fueron adquiridos empleando el programa TurboMass 5.4.2. Columna: DB5 (30 m, 0.25 mm ID, 0.25 μm de partícula), marca Perkin Elmer. Carrier: Helio (31.8 psi), Inyector: 250°C. Programa: Temp inicial 50°C (1 min), Rampa: 10°C/min, Temp Final 290°C. La muestra se inyectó en modo de inyección Splitless. El cromatograma fue obtenido en modo "scan", desde m/z =50 a m/z =350 (scan time: 0.2 s, inter-scan time: 0.1s), solvent delay: 5 min.

#### Resultados:

La identificación de los picos principales se realiza por comparación con los espectros de las Bibliotecas del programa NIST MS Search 2.0.

En la siguiente tabla se resumen los resultados encontrados:

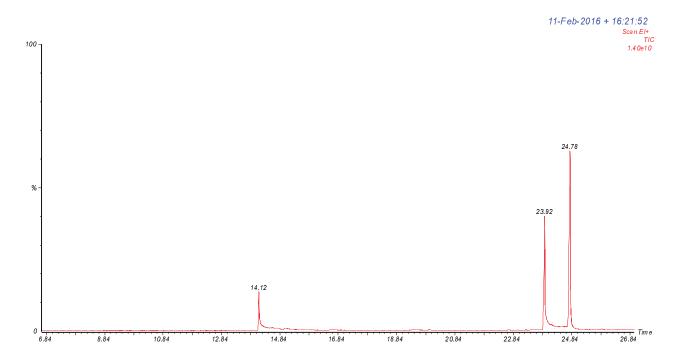
Compuestos	Especies	Datos de la molécula	Tiempo de retencion (min)
Metil 2,6,10- trimetiltridecanoato	Euschitus heros	PM: 270 Nist: 131722	No hay
Metil 2,6,10- trimetildodecanoato	Euschitus heros	PM: 256.42 CAS: 68043- 24-3	No hay
Metil <i>E</i> 2, Z4- decadienoato	Euschitus heros	PM: 182.3 CAS: 4493-42- 9	14.12
Cis-Z-Epoxybisaboleno	Nezaria sp	PM: 220 CAS: 15-071-6	No hay
trans-Z- Epoxybisaboleno	Nezaria sp	PM: 220 Nist: 131711	No hay

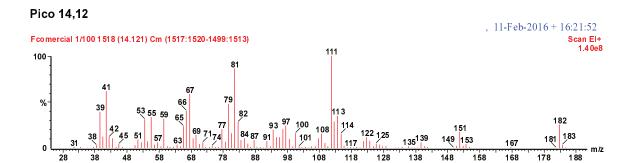
**Página** 1 **de** 4

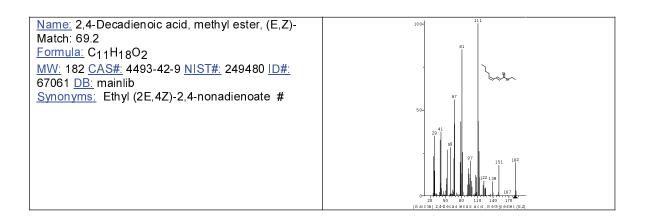
#### Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba

Universidad Nacional de Córdoba - CONICET Facultad de Ciencias Químicas Ciudad Universitaria, X5000HUA, Córdoba ARGENTINA

#### Testigo: Feromona comercial dil 1/100







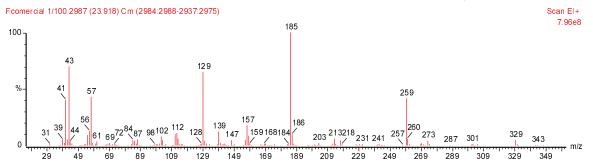
**Página** 2 **de** 4 188

#### Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba

Universidad Nacional de Córdoba - CONICET Facultad de Ciencias Químicas Ciudad Universitaria, X5000HUA, Córdoba **ARGENTINA** 

#### Pico 23,92





Name: Tributyl acetylcitrate prob 96.0

Formula: C20H34O8

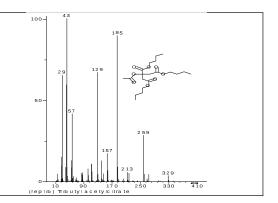
MW: 402 CAS#: 77-90-7 NIST#: 135354 ID#: 3030

DB: replib

Synonyms:

1.1,2,3-Propanetricarboxylic acid, 2-(acetyloxy)-, tributyl ester

- 2. Citric acid, tributyl ester, acetate
- 3.Blo-trol
- 4. Citroflex A
- 5. Citroflex A 4



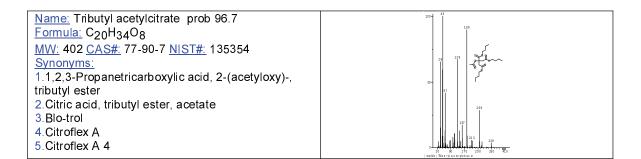
#### Pico 24,78

#### , 11-Feb-2016 + 16:21:52 Fcomercial 1/100 3117 (24.784) Cm (3111: 3119-3072: 3103) Scan El+ 185 100 129 259 203 213218 231 241 257 260 273 287 301 61 69728487 98102 112 1591,68 128 159 199 239 119 139 179 219 259 299 339

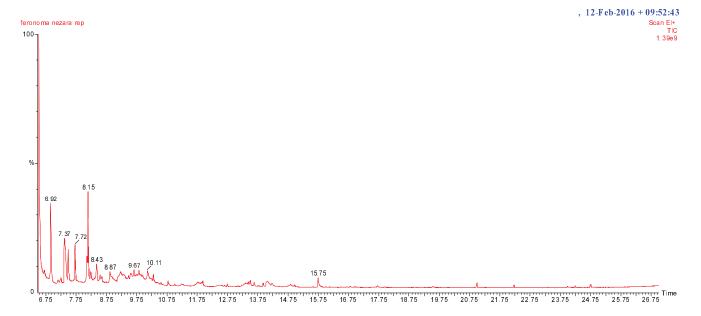
# Universidad Nacional de Córdoba I N F I Q C

#### Instituto de Investigaciones en Fisicoquímica de Córdoba

Universidad Nacional de Córdoba - CONICET Facultad de Ciencias Químicas Ciudad Universitaria, X5000HUA, Córdoba ARGENTINA



#### Muestra de Feromona



<u>Conclusión</u>: En la muestra analizada no se observan ninguno de los compuestos de interés.

#### <u>Bibliografía</u>:

- J Braz. Chem Soc. Vol 18, N°6, 1100-1124, 2007.
- Chemical Ecology Studies in Soybean Crop in Brazil and Their Application to Pest Management. M. Borges, MC Blassioli Moraes, RA Laumann, M Pareja, C.C Silva, M F F Michereff, D Pires Paula. Embrapa Genetic Resources and Biotechnology. 70770-917, Brasilia, DF; Brazil.

Página 4 de 4 190